



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

CARCINOMA ESPINOCELULAR CUTÂNEO EM CÃES

INÊS DA COSTA MOURA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Mário António Pereira da Silva
Soares de Pinho

Doutora Maria da Conceição da Cunha e
Vasconcelos Peleteiro

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier
Félix Lourenço Martins

Dr. Bruno Pessoa dos Santos Baetas

ORIENTADOR

Dr. Bruno Pessoa dos Santos Baetas

CO-ORIENTADOR

Doutora Maria da Conceição da Cunha e
Vasconcelos Peleteiro

2012

LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

CARCINOMA ESPINOCELULAR CUTÂNEO EM CÃES

INÊS DA COSTA MOURA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Mário António Pereira da Silva
Soares de Pinho

Doutora Maria da Conceição da Cunha e
Vasconcelos Peleteiro

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier
Félix Lourenço Martins

Dr. Bruno Pessoa dos Santos Baetas

ORIENTADOR

Dr. Bruno Pessoa dos Santos Baetas

CO-ORIENTADOR

Doutora Maria da Conceição da Cunha e
Vasconcelos Peleteiro

2012

LISBOA

À minha mãe Ana, ao meu pai Carlos,
e aos meus irmãos, João e Patrícia.

AGRADECIMENTOS

Ao Doutor Bruno Baetas, pelos ensinamentos transmitidos sempre com tanto entusiasmo, por me ter feito sentir parte da sua família durante cinco meses, por ter compartilhado comigo a cultura do seu País, por ter sido mais do que um orientador, um amigo, que fez da minha experiência de estágio algo inesquecível.

Ao Doutor António Barros, aos enfermeiros e restante corpo clínico do Hospital Veterinário de Corrêas por me terem recebido de braços abertos e por toda a ajuda e incentivo.

À Professora Doutora Maria da Conceição Peleteiro, minha co-orientadora, por toda a disponibilidade, paciência e por todas as sugestões durante a realização desta dissertação.

À Dona Fernanda, pelo carinho e pelo auxílio nas correções linguísticas desta dissertação.

A toda a turma D, por terem feito destes seis anos de faculdade uma experiência memorável. Por tudo o que partilhamos e por termos crescido juntos, tanto a nível profissional como pessoal. Seis anos depois ficam as saudades, mas a certeza de ter construído com cada um de vocês uma cumplicidade e amizade que serão eternas.

Um agradecimento especial à Catarina Gomes, minha companheira na aventura de Erasmus, e à Joana Leite, por tantos momentos partilhados. Obrigado por tudo.

Ao Anderson Gonçalves, por me ter aberto as portas da sua casa, pelas conversas sinceras e por todas as risadas.

À Ana Almeirante, Diana Moutinho, Erica Gil e Inês Pimenta, amigas de sempre.

À minha família, em especial à avó Nanda e à tia Isaura, por estarem sempre presentes.

À minha mãe e ao meu pai, pelos valores transmitidos, pelo apoio incondicional, pela paciência e por sempre me incentivarem a fazer mais e melhor.

Aos meus irmãos, por partilharem comigo o amor pelos animais e vibrarem com as minhas histórias.

Ao Gastão e ao Thor, meus eternos companheiros de quatro patas, e à mais recente aquisição da família, a Camila.

Moura, I. C. 2012. *Carcinoma Espinocelular Cutâneo em Cães.*

O Carcinoma Espinocelular (CEC) é uma neoplasia com origem nos queratinócitos e representa aproximadamente 5% das neoplasias cutâneas em cães.

A variante cutânea do CEC apresenta-se preferencialmente em áreas de pele despigmentada com pouco pelo e acomete animais de ambos os sexos, com idade compreendida entre os 6 e os 10 anos. É uma neoplasia localmente invasiva, mas a ocorrência de metástases é pouco frequente. Vários factores etiológicos parecem dar origem ao CEC cutâneo. No entanto, a radiação ultravioleta (UV) e o papilomavírus (PV) são os mais frequentes.

O aumento da altitude, diminuição da latitude (países tropicais) e depleção da camada do ozono aumentam a quantidade de raios UV que atingem a superfície terrestre. As lesões cutâneas causadas pela radiação UV iniciam-se com dermatite, progridem para queratose actínica (lesão pré-neoplásica) e esta pode evoluir para CEC. A radiação UV exerce efeito no gene supressor de tumores *p53*, levando à sua mutação. A lesão mais frequentemente causada pela radiação solar nas células da epiderme é a formação de dímeros de timina entre as bases pirimidínicas do ADN.

No que diz respeito ao PV, quatro dos sete tipos deste vírus descritos em cães foram associados à transformação maligna para CEC. São eles: o Papilomavírus oral canino (PVOC), *Canis familiaris* Papilomavírus tipo 2 (CfPV2), Papilomavírus canino tipo 3 (PVC3) e o Papilomavírus canino tipo 4 (PVC4). Pensa-se que o PV actua como cofator de lesões provocadas por radiação solar, bloqueando a apoptose de células lesadas por raios UV. O PV pode também causar mutação direta em *p53* ao inativá-lo.

As lesões de CEC cutâneo podem manifestar-se de forma proliferativa ou de forma erosiva. O diagnóstico presuntivo é feito com base na anamnese e exame físico, mas o exame histopatológico após biópsia é essencial para chegar a um diagnóstico definitivo.

A excisão cirúrgica com amplas margens é a terapêutica que obtém melhores resultados a longo prazo. A cirurgia combinada com radioterapia, implantes intralesionais de 5-fluorouracilo ou cisplatina, terapia fotodinâmica, anti-inflamatórios como o firocoxib, imunomoduladores como o imiquimode, eletroquimioterapia e retinoides (estes últimos em lesões pré-neoplásicas) também demonstraram ter efeitos benéficos. O prognóstico é favorável caso o diagnóstico seja feito precocemente.

Palavras-chave: Tumores cutâneos, Carcinoma Espinocelular, dermatite solar, papilomavírus, tratamento.

ABSTRACT

Moura, I. C. 2012. *Cutaneous Squamous Cell Carcinoma in dogs.*

The Squamous Cell Carcinoma (SCC) is a neoplasia with origin in the keratinocytes and represents approximately 5% of skin tumors in dogs.

The cutaneous form of SCC presents mainly in areas of depigmented skin with little hair and affects animals of both sexes aged between 6 and 10 years. It is a locally invasive tumor but the occurrence of metastases is uncommon. Several etiological factors seem to lead to cutaneous SCC. However, ultraviolet radiation (UV) and papillomavirus (PV) are the most frequent ones.

High altitude, lower latitude (tropical countries) and the ozone layer depletion increase the amount of UV rays that reach the earth's surface. The cutaneous injuries caused by UV radiation begin with dermatitis, that can progress to actinic keratosis (a pre-neoplastic injury) and this may evolve into SCC. UV radiation affects the *p53* tumor suppressor gene, leading to its mutation. The most frequent injury caused by solar radiation on the epidermal cells is the formation of thymine dimers between the DNA pyrimidine bases.

In what regards PV, four of the seven types that have been described in dogs are associated with malignant transformation into SCC. They are: the canine oral Papillomavirus (COPV), *Canis familiaris* Papillomavirus type 2 (CfPV2), canine Papillomavirus type 3 (CPV3) and canine Papillomavirus type 4 (CPV4). It is believed that the PV acts as cofactors of the injuries caused by solar radiation, blocking the apoptosis of the cells damaged by the UV rays. PV can also cause direct mutations in the *p53*, inactivating it.

The lesions of cutaneous SCC can manifest in two forms, the proliferative and the erosive one. The presumptive diagnosis is based on the medical history and physical examination, but the histopathological examination after biopsy is essential to reach a definitive diagnosis. Surgical excision with wide margins is the treatment that gets better long term results. Surgery combined with radiation therapy, 5 - fluorouracil and cisplatin intralesional implants, photodynamic therapy, anti-inflammatory drugs such as firocoxib, immunomodulators such as imiquimod, electrochemotherapy and retinoids (the latter in pre-neoplastic injuries) also demonstrated to have beneficial effects. The prognosis is favorable if the diagnosis is made in the early stages.

Keywords: Skin tumors, Squamous Cell Carcinoma, solar dermatitis, papillomavirus, treatment.

ÍNDICE GERAL

Índice de figuras	vi
Índice de tabelas	vi
Índice de gráficos	vi
Índice de abreviaturas	vii
Relatório de atividades desenvolvidas no estágio curricular	1
Parte I – Revisão bibliográfica	
1. Generalidades – Neoplasias cutâneas em cães	3
2. O carcinoma espinocelular cutâneo no cão	7
3. A dermatite solar e o CEC cutâneo no cão	18
4. O papilomavírus e o CEC cutâneo no cão	24
5. Diagnóstico de CEC	29
6. Tratamento de CEC	35
6.1. Cirurgia	35
6.2. Criocirurgia	35
6.3. Radioterapia	37
6.4. Terapia Fotodinâmica	39
6.5. Quimioterapia	40
6.6. Eletroquimioterapia	42
6.7. Anti-inflamatórios	44
6.8. Retinoides	47
6.9. Imunomoduladores	48
6.10. Vacina	50
6.11. Outras opções terapêuticas	51
6.12. Terapêutica de suporte – Hipercalcemia	51
7. Prognóstico	52
Parte II – Relato de casos clínicos	55
1. Caso clínico 1 – “Lady”	55
2. Caso clínico 2 – “Aramis”	58
3. Caso clínico 3 – “Jujuba”	59
4. Caso clínico 4 – “Princesa”	62
5. Caso clínico 5 – “Rania”	64
Conclusões	68
Referências bibliográficas	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Lesões de queratose actínica e de CEC do tipo erosivo (setas) no abdómen de uma cadela de raça Pit Bull (Original)	11
Figura 2 – Dermatite solar, que se manifesta por eritema generalizado, na pele do abdómen ventral e face interna dos membros posteriores em cadela de raça Dogue Alemão (Original)	21
Figura 3 - Representação esquemática da evolução da dermatite solar até CEC (Adaptado de Cadogan, 2012)	22
Figura 4 – Papilomatose oral causada por Papilomavírus oral canino (PVOC) (setas) em cadela sem raça definida com 3 anos de idade. (Original)	26
Figura 5 - Representação esquemática de como a ação do papilomavírus pode promover CEC em pele lesada pelo sol (Adaptado de Munday & Kiupel, 2010b)	28
Figura 6 - Biópsia incisional, com recurso a biótomo, de lesão de carcinoma espinocelular cutâneo em cadela de raça Boxer (Original)	30
Figura 7 - “Lady”, na segunda consulta no serviço de oncologia do HVC, antes de iniciar a terapêutica com carprofeno. Eram visíveis nódulos (setas pretas), úlceras (seta vermelha) e eritema generalizado (Original)	56
Figura 8 – “Lady”, na quarta consulta no serviço de oncologia do HVC, após 30 dias de terapêutica com carprofeno. Foi visível a diminuição dos nódulos (setas pretas), das úlceras (seta vermelha) e do eritema generalizado (Original)	57
Figura 9 – “Jujuba” após 14 dias de terapêutica com firocoxib. São visíveis os nódulos (setas pretas) no abdómen ventral e zona de descamação (seta azul) na pele do tórax ventral (Original)	61
Figura 10 - Lesões nodulares (setas vermelhas) e zona de descamação (seta preta) na pele da “Jujuba” após a terceira aplicação de 5-FU endovenoso, no serviço de oncologia do HVC (Original)	62
Figura 11 – Lesões nodulares (setas pretas), úlceras (setas vermelhas) e área de pele adelgaçada (seta azul) da “Rania” na consulta de dia 19 de outubro, no serviço de oncologia do HVC (Original)	66
Figura 12 - “Rania” na consulta de dia 10 de novembro, no serviço de oncologia do HVC (Original)	66
Figura 13 – Lesão nodular (seta preta), úlceras (setas vermelhas), eritema generalizado e máculas da “Rania” na consulta de dia 12 de janeiro, no serviço de oncologia do HVC (Original)	67

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação TNM de tumores com origem na epiderme e derme de cães (exceto linfoma e mastocitoma) (Morris & Dobson, 2002)	14
--	----

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Média de idades dos animais da amostra	68
Gráfico 2 - Distribuição sexual da amostra	69

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

5-FU	5-Fluorouracilo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AgNOR	<i>Silver stained nucleolar</i> organizing regions
AINES	Anti-inflamatórios não esteroides
ALA	Ácido 5-Aminolevulínico
ANM	Área nuclear média
ARN	Ácido Ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensageiro
ATX-S10(Na)	Fotossensibilizador comercial composto por sal sódico de 13,17-bis(1-carboxipropionil)carbamoiletil-8-etenil-2-hidroxi-3-hidroxiiminoetilideno-2,7,12,18 tetrametilporfirina
BID	duas vezes ao dia
CEC	Carcinoma espinocelular
CECs	Carcinomas espinocelulares
CfPV-2	<i>Canis familiaris</i> Papilomavírus tipo 2
cGy	centigray
⁶⁰ Co	Cobalto 60
COX	Cicloxygenase
DMV	Densidade intratumoral de microvascularização
E	<i>Papillomavirus early region</i>
FCEV	Fator de crescimento do endotélio vascular
FNT	Fator de necrose tumoral
Gy	Gray
HVC	Hospital Veterinário de Corrêas
IL	Interleucina
IM	Índice mitótico
INF	Interferão
IP	Índice de proliferação celular
Kdap	<i>Keratinocyte differentiation-associated protein</i>
L	<i>Papillomavirus later region</i>
MAL	Metilaminolevulinato
PCT	Proteína de choque térmico
PGs	Prostaglandinas
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PNM	Perímetro nuclear médio
PO	<i>per os</i>
PpIX	Protoporfirina IX
PQA	Proteína quinase A
PQC	Proteína quinase C
pRb	Proteína do retinoblastoma
PrPTH	Péptido relacionado com paratormona
PV	Papilomavírus
PVC	Papilomavírus canino
PVOC	Papilomavírus oral canino
QA	Queratose actínica
RFCE	Recetor do fator de crescimento epidérmico
RFCEV	Recetor do fator de crescimento do endotélio vascular
SCC	<i>Squamous cell carcinoma</i>
SID	uma vez ao dia
TCB	Tumor de células basais
TID	três vezes ao dia
UV	Ultravioleta
OMS	Organização Mundial de Saúde

RELATÓRIO DE ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO ESTÁGIO CURRICULAR

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária foi realizado na área de Medicina e Cirurgia de Animais de Companhia e teve a duração total de 1060 horas. Este estágio foi realizado em duas instituições distintas. O primeiro período, que consistiu em 300 horas, teve lugar no Hospital Clínic Veterinari da Universidade Autònoma de Barcelona (UAB) e o segundo período de estágio decorreu no Hospital Veterinário de Corrêas (HVC), Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil, e teve a duração de 760 horas.

Atividades desenvolvidas no Hospital Clínic Veterinari – UAB:

Este estágio decorreu no período de 1 de agosto de 2011 a 4 de setembro de 2011. Como aluna visitante neste hospital circulei de forma rotativa pelos diferentes serviços, com horário de segunda a sexta-feira das 8 horas às 20 horas, ao longo de cinco semanas, mudando todas as semanas de serviço.

Na primeira semana foi-me atribuído o serviço de Anestesia, onde auxiliei o veterinário interno responsável na entubação, indução, monitorização e recuperação anestésica dos animais.

Na segunda semana, no serviço de Cirurgia de tecidos moles, tive oportunidade de observar e participar como ajudante ou circulante em diversas cirurgias, assim como assistir a consultas de avaliação pré e pós cirúrgica.

Na terceira semana, no serviço de Medicina Interna, assisti a consultas realizadas por médicos veterinários internos e residentes. Tive também oportunidade de acompanhar a realização de exames complementares, discussão de planos de diagnóstico, tratamento e outras decisões clínicas. Pude, em algumas situações, realizar a anamnese, exame físico e avançar com possíveis diagnósticos diferenciais de animais que se apresentavam à consulta, tendo que posteriormente apresentar e discutir os casos com o médico veterinário responsável que prosseguia com os exames complementares e tratamento.

Na quarta semana foi-me atribuído o serviço de Internamento, onde a minha função foi auxiliar o médico veterinário interno responsável a zelar pelos animais internados, cumprindo a medicação prescrita, monitorização, alimentação e passeios.

Terminei o meu estágio no serviço de Imagiologia, em que me competia assistir os médicos veterinários deste serviço na realização de radiografias, ecografias, ecocardiografias, endoscopias e ressonâncias magnéticas, auxiliando no posicionamento dos animais, monitorização anestésica, quando aplicável, e posterior interpretação dos resultados.

Atividades desenvolvidas no HVC:

O estágio neste Hospital teve lugar entre 10 de outubro de 2011 e 2 de março de 2012, de segunda a sexta-feira entre as 8 horas e as 16 horas.

As atividades desenvolvidas incidiram principalmente no acompanhamento de consultas de referência na área da Oncologia. Tive oportunidade de assistir e auxiliar o médico veterinário responsável na realização da anamnese, exame físico, discussão de possíveis diagnósticos, realização de exames complementares (incluindo execução de punções aspirativas com agulha fina, PAAF, e biópsias), aplicação de terapêutica apropriada (que muitas vezes consistia em cirurgia e/ou quimioterapia), assim como na comunicação e relação com os proprietários de pacientes oncológicos.

Outra vertente do estágio incluiu a área de Medicina Interna geral, que consistiu na assistência a consultas de rotina com abordagem inicial ou seguimento de casos, na realização de exames complementares, diagnóstico e terapêutica. Nos exames complementares pude fazer colheitas de sangue e auxiliar na realização de radiografias, ecografias e sua posterior avaliação.

Quartas e quintas-feiras, na parte da tarde, pude fazer a preparação dos animais e auxiliar como ajudante ou circulante em diversas cirurgias de tecidos moles e ortopédicas.

Neste estágio tive ainda oportunidade de participar numa campanha municipal de castração de cães e gatos que acontecia todas as terças-feiras de manhã. Pude observar todo o processo e colaborar na preparação dos animais para cirurgia, na indução e monitorização anestésica, mas também na própria cirurgia como ajudante ou circulante.

Apesar de não ser um serviço atribuído a alunos estagiários, auxiliei, sempre que necessário, no serviço de internamento na aplicação de medicações, monitorização, colheita de sangue, colocação de cateteres e alimentação dos animais internados.

1- GENERALIDADES – Neoplasias cutâneas em cães

A Organização Mundial de Saúde define neoplasia como sendo “o crescimento descontrolado de células e sua disseminação. Pode ocorrer em quase todas as regiões do corpo e, por vezes, invade os tecidos adjacentes, podendo também metastizar para locais distantes.” (World Health Organization [WHO], 2012, disponível em: www.who.int/topics/cancer/en, tradução livre).

Rodaski e Werner (2009) referem que de todas as neoplasias em cães, aproximadamente 25 a 35% são malignas. Estimam que a taxa de incidência dos tumores de pele e de tecido subcutâneo em cães seja cerca de 30% de todas as neoplasias que acometem esta espécie e que, dessa percentagem, 2/3 sejam nódulos únicos de natureza benigna com origem na epiderme ou estruturas anexas. No entanto, um estudo retrospectivo com uma amostra de 761 tumores cutâneos em cães verificou que apenas 52,8% desses tumores tinham carácter benigno (Souza, Figuera, Irigoyen & Barros, 2006).

A pele é um órgão complexo, amplo e com inúmeras funções, sendo uma das mais importantes a de proteção do organismo (Rodaski & Werner, 2009). Acredita-se que hoje, entre 25% e 75% das consultas realizadas em clínicas e hospitais veterinários estejam relacionadas com problemas dermatológicos (Scott, Miller & Griffin, 2001). Este facto deve-se, não só por a pele ser o maior órgão do corpo, mas também por ser o mais facilmente observável. Assim sendo, não é surpreendente que os tumores cutâneos sejam as neoplasias mais diagnosticadas no cão e no gato (Morris & Dobson, 2002).

A pele é composta por dois estratos, a epiderme e a derme, e pelos anexos. A epiderme é constituída por epitélio pavimentoso estratificado e a derme por tecido conjuntivo, bem vascularizado. Dos anexos fazem parte as glândulas sebáceas, glândulas apócrinas e folículos pilosos. Qualquer uma destas estruturas, tecidos ou células pode dar origem a tumores benignos ou malignos (Rodaski & Werner, 2009). A maioria dos tumores cutâneos são primários. No entanto, é também possível encontrar ao nível da pele metástases e manifestações de síndromes paraneoplásicas (Northrup & Gieger, 2010).

A grande extensão da pele implica uma frequente exposição a agentes cancerígenos. A etiologia da maior parte dos tumores de pele permanece desconhecida. Porém, agentes físicos e químicos, bem como fatores biológicos, foram identificados como causas frequentes de neoplasias com esta localização (Morris & Dobson, 2002). Esses fatores incluem viroses, radiações solares e ionizantes, influências hormonais, alterações

imunológicas e genéticas (incluindo alterações em oncogenes e genes supressores de tumores como o *p53*), vacinações e excessos de temperatura (Rodaski & Werner, 2009).

É importante distinguir os tumores de pele, principalmente aqueles que se apresentam com lesões múltiplas, de outras alterações dermatológicas como lesões hiperplásicas, granulomatosas, inflamatórias, imunomediadas e alterações do desenvolvimento (Morris & Dobson, 2002).

A idade média para ocorrência de neoplasias cutâneas em cães é de 10 ½ anos (Scott et al., 2001). As raças com maior incidência destas neoplasias são: o Boxer, Scottish Terrier, Bull Mastiff, Basset Hound, Weimaraner, Kerry Blue Terrier e Norwegian Elkhound (Scott et al., 2001; Peterson, 2006). Algumas raças de cães estão predispostas a desenvolver determinados tipos de tumores. Características de pelagem e da pigmentação da pele podem promover tipos de tumores específicos (Nesbitt, 1998).

No que respeita ao sexo, Scott et al. (2001) referem que as fêmeas têm uma maior incidência de neoplasias cutâneas do que os machos (56% versus 44%). Já Vail e Withrow (2001) afirmam que não existe diferença significativa na incidência destas neoplasias entre os dois sexos.

Para Rodaski e Werner (2009) e Northrup e Gieger (2010), histologicamente, os tumores de pele podem ser classificados em neoplasias epiteliais, neoplasias mesenquimatosas, neoplasias melanocíticas ou em neoplasias de células redondas. Nesta última categoria incluem, por exemplo, os mastocitomas. Já Sharif (2006) e Scott et al. (2001) defendem que a classificação deve ser feita em neoplasias epiteliais, mesenquimatosas ou melanocíticas, não considerando a categoria de tumores de células redondas. Inserem os mastocitomas na categoria de neoplasias mesenquimatosas. No entanto, Gross, Ihrke, Walder e Affolter (2005) consideram que apenas duas categorias histológicas de tumores cutâneos devem ser mencionadas, a de neoplasias epiteliais e a de neoplasias mesenquimatosas. Nas neoplasias mesenquimatosas inserem os tumores melanocíticos e os mastocitomas.

Apesar de os números diferirem de acordo com os diferentes autores, Scott et al. (2001) referem que aproximadamente 55% das neoplasias de pele em cães são de origem mesenquimatosas, 40% de origem epitelial e 5% de origem melanocítica.

Quanto à classificação celular de neoplasias cutâneas em cães, também não existe consenso entre os autores sobre quais as mais diagnosticadas. Para Rodaski e Werner (2009) são, por ordem decrescente: mastocitomas, adenoma perianal, lipoma, adenoma sebáceo e fibrossarcoma. De acordo com Scott et al. (2001) são, pela seguinte ordem: lipoma, hiperplasia das glândulas sebáceas, mastocitoma, histiocitoma e papiloma (papiloma escamoso e fibropapiloma). Já Northrup e Gieger (2010) afirmam que os tumores cutâneos mais comuns em cães são: histiocitoma (12%), adenoma perianal (12%), mastocitoma (10%), lipoma (8%) e hemangiopericitoma (7%).

Deparando-se com esta disparidade de números referentes à epidemiologia dos tumores cutâneos, no ano de 2006, Sharif realizou um estudo epidemiológico sobre tumores de pele em cães e gatos, seguindo a nova classificação publicada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) no ano de 1998. Este estudo utilizou uma amostra de 816 cães com neoplasias e lesões não neoplásicas de pele. Constatou que os 5 tumores de pele mais comuns em cães foram: histiocitoma (16,4%), mastocitoma (6,9%), lipoma (5,6%), adenoma perianal (5,4%) e fibrossarcoma (3,9%). Quanto à origem histológica, 49,3% foram classificados como sendo epiteliais, 45,3% mesenquimatosos e 5,3% melanocíticos. Estes dados diferem do que foi referido anteriormente citando Scott et al. (2001). Segundo este estudo, os animais mais predispostos ao aparecimento de tumores de pele foram: cães sem raça definida (25%), Pastor Alemão (7,2%), Boxer (4,4%), Golden Retriever (4,0%) e Westhighland White Terrier (3,6%). O que também difere do anteriormente exposto. No que respeita à idade, a média registada foi de 7,5 anos, uma média um pouco mais baixa que a referida em outras publicações. Contudo, este facto pode ser justificado pela alta incidência de animais com histiocitoma (neoplasia característica de animais jovens). Quanto ao sexo, foi registado um maior número de casos de neoplasias cutâneas em cães machos (55,5%). As localizações mais comuns para o aparecimento de lesões foram os membros e a cabeça. A chave para a gestão e prognóstico adequados de neoplasias cutâneas é o diagnóstico específico, que pode ser obtido por punção e análise citológica e/ou biópsia e exame histopatológico (Scott et al., 2001). Porém, a anamnese e exame físico são também de extrema importância. Na anamnese devem ser incluídas perguntas como a duração da lesão, a rapidez de crescimento, alterações de aparência, coloração, presença de prurido, resposta a terapêuticas prévias e história clínica relacionada (Vail & Withrow, 2001). As neoplasias cutâneas são facilmente identificáveis por inspeção visual e palpação. No entanto, cabe ao veterinário, durante o exame físico de rotina, prestar especial atenção a áreas menos visíveis ao proprietário, como ouvidos, ventre, região axilar, inguinal, perianal e genital (Northrup & Gieger, 2010). Devem ser procuradas lesões pré-neoplásicas, como crostas que não cicatrizam, descolorações e alterações de textura em zonas menos pigmentadas ou zonas com pouco pelo, que possam estar facilmente sujeitas à agressão da luz solar (Northrup & Gieger, 2010). Todas as lesões encontradas devem ser registadas com fotografia digital ou num mapa esquemático do corpo do animal. As massas devem ser medidas tridimensionalmente. Deve-se também registar informações sobre a sua consistência, presença ou ausência de fixação aos tecidos subjacentes e se a pele em redor da lesão se encontra ou não ulcerada. Estes registos permitem que seja feito um acompanhamento rigoroso da evolução das lesões (Vail & Withrow, 2001). A anamnese e o exame clínico podem muitas vezes direccionar um clínico experiente para um diagnóstico presuntivo. Todavia, apenas com base na avaliação histológica é possível emitir um diagnóstico definitivo (Scott et al., 2001).

A citologia é uma técnica rápida, fácil, pouco invasiva e muitas vezes fornece informação valiosa sobre o tipo de células neoplásicas e a sua diferenciação. Contudo, esta técnica não substitui a biópsia e o exame histopatológico (Scott et al., 2001). A punção aspirativa é extremamente útil para avaliar a disseminação metastática em linfonodos (Morris & Dobson, 2002). A biópsia e o exame histopatológico estão indicados para lesões em crescimento, que alterem a sua aparência, que causem desconforto ao paciente ou para aquelas massas em que a punção aspirativa não permitiu um resultado conclusivo (Northrup & Gieger, 2010). A decisão sobre o tipo de biópsia mais apropriado, incisional ou excisional, vai depender do tamanho, localização e diagnóstico presuntivo da lesão (Northrup & Gieger, 2010).

O exame histopatológico fornece informação, não só sobre o diagnóstico, mas também sobre o índice mitótico (IM), grau histológico, invasão linfática ou vascular e se as margens cirúrgicas estão ou não livres de células neoplásicas (Northrup & Gieger, 2010).

As análises hematológicas e bioquímicas, em geral, não são úteis para o diagnóstico de tumores cutâneos. No entanto, alguns desses tumores podem estar associados a complicações paraneoplásicas que se manifestam nestes exames. As análises hematológicas e bioquímicas estão indicadas para a avaliação geral do paciente e para identificar alguma patologia concorrente que possa existir (Rodaski & Werner, 2009).

A radiografia de um tumor primário de pele, por norma, não é necessária, exceto quando a lesão é invasiva ou se situe junto ao osso (Morris & Dobson, 2002). Devem ser efetuadas radiografias torácicas (3 planos) em todos os animais suspeitos ou com diagnóstico confirmado de neoplasia maligna, afim de detetar possíveis metástases pulmonares. Também se deve realizar ecografia abdominal quando houver suspeita de possível disseminação tumoral (Peterson, 2006). Pode-se recorrer à tomografia axial computadorizada (TAC) e à ressonância magnética (RM), sempre que se considere pertinente, para obter informação mais detalhada e precisa sobre a extensão das lesões (Vail & Withrow, 2001). O diagnóstico por radiografia e/ou ecografia também está indicado na avaliação dos linfonodos internos que, juntamente com as restantes informações recolhidas, permite fazer o estadiamento do tumor (Rodaski & Werner, 2009). É importante ter em conta que, por vezes, tumores ulcerados podem causar linfadenopatia reativa sem a presença de metástases (Vail & Withrow, 2001). O estadiamento avalia o tamanho e o grau de infiltração do tumor no tecido subcutâneo e a existência de compromisso de estruturas subjacentes à neoplasia. Para fazer o estadiamento é utilizado o sistema de classificação TNM (tumor, linfonodo, metástase), criado pela OMS. Este sistema possibilita uma descrição detalhada da apresentação clínica do tumor, permitindo prever o seu comportamento biológico. Com base no estadiamento, juntamente com as informações sobre o estado geral do animal, pode-se decidir qual o protocolo terapêutico mais adequado para cada caso e dar respostas ao proprietário do animal sobre o prognóstico da neoplasia (Vail & Withrow, 2001). O protocolo terapêutico em muitas neoplasias cutâneas inclui cirurgia, criocirurgia,

eletrocirurgia, radioterapia, terapia por laser, quimioterapia, imunoterapia, hipertermia, terapia fotodinâmica ou a conjugação de várias das técnicas mencionadas (Scott et al., 2001). O prognóstico da maioria dos tumores de pele é excelente, com boas hipóteses de cura, se a remoção cirúrgica total for possível (Dernell, 2005).

2- O CARCINOMA ESPINOCELULAR CUTÂNEO NO CÃO

Carcinoma espinocelular (CEC), carcinoma de células escamosas ou carcinoma epidermoide é uma neoplasia epitelial maligna, comum em cães e gatos, que tem origem nos queratinócitos (Scott et al., 2001).

Os queratinócitos são as células mais abundantes da epiderme. Encontram-se nos 5 estratos que a constituem. São mais numerosos nos estratos mais superficiais, ou seja, o estrato córneo da epiderme possui maior percentagem de queratinócitos do que o estrato basal. Os tonofilamentos de queratina, juntamente com os desmossomas, são essenciais para a coesão entre as células e para conferir resistência ao atrito (Junqueira & Carneiro, 2004). Produzem queratina, mas essa queratina não é semelhante em todas as camadas da epiderme, pois a sua composição vai-se modificando à medida que os queratinócitos se diferenciam. Assim, o estrato mais próximo da derme, o estrato basal, tem queratinócitos menos diferenciados que sintetizam queratina de baixo peso molecular, enquanto os queratinócitos dos estratos mais superficiais, logo mais diferenciados, sintetizam queratina de maior peso molecular. Quando chegam ao estrato córneo, os queratinócitos estão transformados em placas sem vida que descamam continuamente (Junqueira & Carneiro, 2004).

O CEC pode comprometer qualquer parte da pele, mas as áreas mais frequentemente afetadas são o tronco, orelhas, pálpebras, narina, lábios, dedos, escroto, região inguinal e região axilar (Rodaski & Werner, 2009). Num estudo retrospectivo realizado por N-Guim, Guim, Kaiser, Berselli, Scope, Schmitt, Gamba, Raposo e Fernandes (2009) em 39 cães com CEC, registaram que: 17,94% dos casos se localizaram na mama, 12,85% no tronco, 10,25% em membros, focinho e prepúcio e 7,69% no escroto e leito ungueal. Neste estudo, e ao contrário do que descreve a literatura em geral, os autores referem a mama como o local mais afetado por CEC. No entanto, é possível que a designação “mama” tenha sido mal empregue e que os autores se estivessem a referir à pele da região mamária.

Tendo em conta as diferentes localizações possíveis, as formas de apresentação mais comuns de CEC no cão são as seguintes:

- CEC cutâneo ocorre em zonas glabras ou de pouco pelo e de pele despigmentada ou pouco pigmentada. Por exemplo, tronco, ventre, região inguinal e axilar (Scott et al., 2001);
- CEC dos dígitos representa 25 a 52% de todas as neoplasias que acometem os dígitos de cães. É típico de raças grandes e de pelagem negra. Provocam claudicação e lise óssea (Northrup & Gieger, 2010);
- CEC nasal pode ocorrer como sequela de despigmentação associada a lúpus cutâneo, pênfigos eritematoso e vitiligo, pois nestas condições existe aumento da suscetibilidade a lesões actínicas. Provoca epistaxes, espirros, ulceração e aumento de volume da região nasal (Scott et al., 2001). Este tipo de tumor está mais associado à inflamação crónica do que propriamente à lesão solar (Gross et al., 2005);
- CEC multicêntrico *in situ* (Doença de Bowen) é uma forma de CEC pouco frequente em gatos e raro em cães. Possivelmente encontra-se associado à transformação maligna por papilomavírus (PV). Ocorre em animais mais velhos, em zonas com pouco pelo, mas em pele com pigmentação escura. Ao contrário das restantes formas de CEC não invade a membrana basal (Scott et al., 2001);
- CEC oral é uma das formas mais comuns de neoplasia oral em cães. Pode surgir nos lábios, gengiva, língua, tonsilas ou mucosa bucal (Scott et al., 2001). A exposição de cães ao fumo de tabaco foi associada ao dobro do risco de desenvolver CEC oral, mas isto não provou ser estatisticamente significativo (Northrup & Gieger, 2010). O CEC verrucoso é o tipo histológico mais comum na cavidade oral (Gross et al., 2005);
- CEC das pálpebras/ocular também é raro em cães e a sua principal manifestação clínica é a conjuntivite (Northrup & Gieger, 2010);

A maioria dos autores, como Rodaski e Werner (2009), concordam que o CEC representa 5% dos tumores de pele em cães. No entanto, Vail e Withrow (2001) calcularam a incidência de CEC em cães em diferentes países. Concluíram que nos Estados Unidos da América este tipo de tumor representava 3,9% dos tumores de pele em cães, no Reino Unido 5,4%, enquanto que na Austrália a incidência foi de 6,9%. Estas diferentes incidências podem ser justificadas pela intensidade da radiação solar, como será discutido posteriormente. No estudo realizado por Sharif (2006), dos 816 cães com neoplasias e lesões não neoplásicas de pele menos de 1% apresentou CEC, esta diferença talvez se deva à aplicação de normas de classificação diferentes. Como foi referido anteriormente, Sharif (2006) realizou um estudo epidemiológico baseado na nova classificação da OMS, nessa classificação o CEC é dividido em CEC propriamente dito, que neste estudo representou 0,9% de todos os tumores de pele em cães, e em CEC dos dígitos, que registou uma incidência de 2,1%.

No caso concreto do CEC cutâneo, que será o foco deste trabalho, segundo Scott et al. (2001) este tipo de carcinoma ocorre em média aos 9 anos de idade. Já para Rodaski e Werner (2009) e Goldschmidt e Hendrick (2002) o intervalo de idades de ocorrência deste carcinoma nos cães é entre os 6 e os 10 anos. Contudo, referem que já foram diagnosticados carcinomas espinocelulares (CECs) em animais com 2 e 5 meses de idade. Num estudo epidemiológico realizado por Costa (2009), numa amostra de 10 cães com CEC cutâneo, a média de idades foi de 5,3 anos, o que contraria os restantes autores que referem ser uma neoplasia que afeta animais mais idosos. Este facto pode ser explicado pela exposição precoce destes animais a fatores de risco, como a radiação solar, pois o estudo foi realizado no Brasil (País tropical), ou ainda porque a amostra pode não ter sido representativa.

O CEC cutâneo é uma neoplasia que não apresenta predisposição sexual. Animais de pelo curto, com pelagem branca ou malhada e pele pouco pigmentada ou mesmo despigmentada (devido à falta de fotoproteção proporcionada pela ausência melanina), como Dálmatas, American Staffordshire Terrier, Bull Terrier brancos ou malhados e Beagles têm maior predisposição para este tumor, principalmente se passarem longas horas ao sol (Scott et al., 2001; Rodaski & Werner, 2009; Goldschmidt & Hendrick, 2002) Por exemplo, Hargis, Thomasso e Phemister (1977) levaram a cabo uma investigação com cães da raça Beagle que viviam no Colorado (elevada altitude) e que tinham intensa exposição solar. Verificaram que 1/2 dos cães desenvolveram dermatite solar, e desses quase 20% desenvolveram CEC, hemangioma e/ou hemangiossarcoma em áreas despigmentadas da pele, como o abdómen. Scopel, Spader, Guim, Danieli e Fernandes (2007) verificaram, em dados relativos a várias espécies animais acometidas por CEC cutâneo no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2006, que, ao contrário do que afirma Scott et al. (2001) e vários outros autores, este tumor em cães apresentou uma incidência maior em fêmeas (53,33%) do que em machos. Também N-Guim et al. (2009) relatam ter registado maior incidência de CEC em fêmeas do que em machos (51,28% vs. 48,72%). Contudo, as diferenças entre as percentagens apresentadas não são significativas, o que invalida a afirmação de que as fêmeas são mais acometidas por CEC cutâneo do que os machos.

Gross et al. (2005), assim como alguns autores brasileiros, referem ainda o Pit Bull como sendo uma raça amplamente afetada por esta patologia. Costa (2009) afirma que, no Brasil, 6 em cada 10 cães afetados por CEC cutâneo são da raça Pit Bull. Contudo, esta grande incidência pode ser justificada, não só pela intensidade da radiação solar, mas também pelo aumento da população desta raça nos últimos anos no País.

A génese do CEC requer uma série de acontecimentos a nível celular (como mutações genéticas ocorridas ao acaso) que acontecem em uma ou duas células (Markey, 1995). O processo genético que leva à malignidade das células é constituído por 3 passos: a iniciação, a promoção e a proliferação. Na iniciação, um fator etiológico atua no crescimento

ou regulação celular, interagindo com o material genético. Durante a promoção do tumor, fatores adicionais criam um ambiente que favorece a proliferação das células mutadas. Por último, a progressão tumoral consiste em acontecimentos genéticos e epigenéticos que dão capacidade aos queratinócitos para invadir o estroma (Markey, 1995).

Os fatores etiológicos que levam à formação de CEC cutâneo não são claros em todos os casos. É um tipo de tumor que ocorre com mais frequência em pele lesada pela radiação solar (radiação ultravioleta, UV), sendo muitas vezes precedido por queratose actínica (QA) (lesão pré-neoplásica) (Scott et al., 2001). A progressão das lesões pré-neoplásicas para CEC pode demorar anos (Rodaski & Werner, 2009). Em humanos, considera-se um aumento de 12% de risco de surgir CEC numa lesão, ou área perilesional, de QA (Markey, 1995). Pelo anteriormente exposto, não é de estranhar que o CEC cutâneo seja mais comum em países tropicais, como o Brasil, onde os animais estão sujeitos a exposição solar persistente (Scopel, et al., 2007). Contudo, quando comparadas as diferentes incidências de CEC em vários países à mesma latitude, chegou-se à conclusão que outros fatores devem interferir na etiologia deste tumor (Markey, 2005).

Também se pode atribuir a ocorrência de CEC a radiações ionizantes (raios X e raios gama), à exposição ao arsénico e a hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (presentes, por exemplo, na fuligem de chaminé, fumo de tabaco e alcatrão), ao PV, à falta ou perda de pelo e/ou pigmentação da pele, a genodermatoses, a úlceras crónicas, a cicatrizes de queimaduras, a processos infecciosos crónicos e a condições imunossupressoras (como lesões crónicas de lúpus cutâneo, que provocam diminuição de linfócitos T totais) (Scott et al., 2001). Nesbitt (1998) refere ainda a possibilidade de múltiplos CECs se desenvolverem no interior de múltiplos quistos foliculares.

No que respeita às queimaduras, Markey (2005) refere que estas causam uma diminuição da vigilância imunológica do animal, por essa razão, quando são expostas a outro agente cancerígeno podem sofrer transformação maligna.

O aspeto macroscópico das lesões de CEC cutâneo depende da sua etiologia e da fase de evolução em que a doença se encontra (Rodaski & Werner, 2009). Existem dois tipos de CEC cutâneo: o que se manifesta por lesões proliferativas e o que se manifesta por lesões erosivas (ulcerativas). O CEC proliferativo é caracterizado por lesões de diferentes tamanhos (de alguns mm a vários cm), que podem variar desde placas firmes e avermelhadas a massas papilares de vários tamanhos, muitas das quais com aparência de couve-flor. A sua superfície sangra facilmente e normalmente encontra-se ulcerada (Scott et al., 2001). As lesões características do tipo erosivo (ulcerativo) inicialmente apresentam-se superficiais, crostosas ou ulceradas e com o tempo ficam profundas e crateriformes (Figura 1). O seu tamanho também é variável. As lesões erosivas são as que estão mais frequentemente associadas a exposição crónica à radiação UV (Scott et al., 2001).

À medida que o tumor invade a derme as áreas tumorais tornam-se mais firmes. Com o tempo as úlceras aumentam de tamanho e profundidade e infecções bacterianas secundárias podem instalar-se, resultando num exsudado purulento à superfície da massa tumoral (Goldschmidt & Hendrick, 2002).

As lesões do CEC cutâneo podem ser solitárias ou múltiplas. Normalmente são solitárias, exceto quando os tumores se encontram associados a lesões solares. Nesses casos as lesões podem ser múltiplas (Rodaski & Werner, 2009). Quando o CEC é causado por dano solar na pele as lesões tumorais podem ser acompanhadas de eritema, descamação seguida de formação de crostas, adelgaçamento da epiderme (lesões pré-neoplásicas) e ainda por outros tumores cutâneos que também sejam induzidos pela radiação solar, como hemangiomas e hemangiossarcomas dérmicos (Northrup & Gieger, 2010).

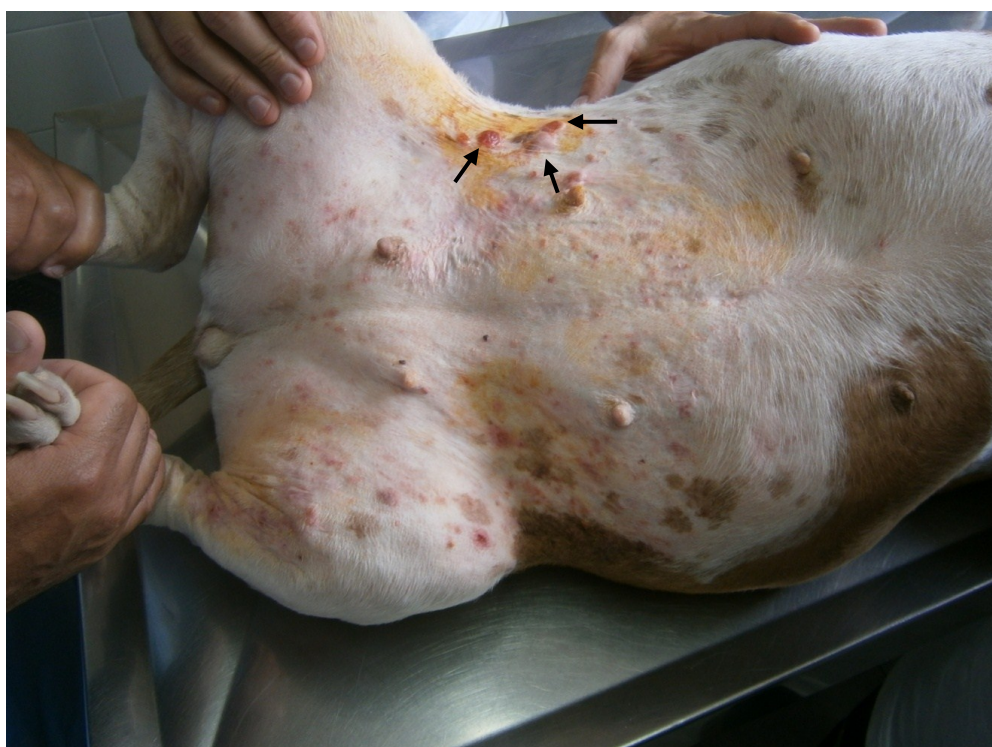


Figura 1- Lesões de queratose actínica e de CEC do tipo erosivo (setas) no abdómen de uma cadela de raça Pit Bull. (Original).

Este tipo de tumor, por norma, é localmente invasivo, infiltra a derme e os tecidos subcutâneos subjacentes, mas metastiza lentamente. Metástases nos linfonodos regionais ou no pulmão são encontradas em casos avançados ou em neoplasias pouco diferenciadas, como as variantes acantolítica ou de células fusiformes. Se houver metastização para linfonodos regionais está indicada a extirpação dos mesmos (Scott et al., 2001). No estudo referido anteriormente, efetuado com uma colónia de Beagles no Colorado, dos 18 cães que desenvolveram CEC invasivo por exposição solar, apenas 2 apresentaram metástases nos linfonodos regionais ou no pulmão (Hargis et al., 1977).

Os CECs cujo fator etiológico é a inflamação crônica ou dermatose degenerativa (como cicatrizes de queimaduras), assim como pacientes imunocomprometidos, têm maior incidência de metástases (Gross et al., 2005).

Em humanos, foi demonstrada a associação entre o CEC metastático e a expressão de queratina embrionária, que normalmente não é detectada na epiderme normal. Esta expressão pode conferir às células plasticidade e mobilidade acrescidas, dando-lhes capacidade para se disseminarem pelo organismo (Markey, 1995).

Foram realizados vários estudos sobre o processo de metastização do CEC tendo o rato como modelo experimental. Um exemplo, foi o estudo realizado, em 2003, por Wheeler, Ness, Oberley e Verma. Estes investigadores realizaram indução tumoral com 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) em ratos e obtiveram resultados que sugerem que a proteína quinase C ϵ (PQC ϵ) é um sinal inicial que leva à expressão do fator de necrose tumoral (FNT)- α , sendo os queratinócitos a sua fonte primária. A regulação da produção do FNT- α em queratinócitos epidérmicos, levada a cabo pela PQC ϵ , parece ser feita através de formas reativas do oxigénio e da metaloprotease transmembranar TACE (enzima de conversão do FNT- α). Sugerem ainda que o bloqueio da expressão do FNT- α em ratos transgênicos que superexpressam PQC ϵ , inibindo a sua síntese com pentoxifilina, pode prevenir completamente o desenvolvimento de CEC metastático. Estes investigadores concluem, com base no anteriormente exposto, que o FNT- α pode ser usado como um biomarcador útil no prognóstico de CEC da pele e que a sua neutralização pode ser considerada útil na terapia no CEC metastático.

Outra descoberta importante sobre metastização do CEC foi realizada por Bongiovanni, Malatesta, Brachelente, D'Edigio e Salda (2011) que demonstraram, pela primeira vez, a expressão imunohistoquímica de β -catenina na pele normal e em alguns tumores epiteliais cutâneos no cão. A β -catenina é um componente estrutural das junções intercelulares e desempenha um papel fundamental na homeostasia cutânea, particularmente na manutenção das células estaminais dos folículos pilosos. É codificada pelo gene CTNNB1 (Bongiovanni et al., 2011). Este grupo de investigadores levantou a hipótese de a β -catenina poder ser usada como marcador de células estaminais tumorais. Contudo, neste estudo, a expressão de β -catenina nuclear só foi evidente em 25% de casos de CEC, o que dificulta a avaliação da sua utilidade como possível marcador celular. No entanto, verificaram que a imunomarcagem de β -catenina nuclear ocorria em CECs infiltrativos, ou seja, em tumores pouco diferenciados. Esta imunomarcagem nuclear foi associada à perda de expressão de β -catenina membranar. Estas constatações sugerem que a β -catenina nuclear contribui para o ganho de mobilidade das células tumorais, sua progressão e, em alguns casos, até mesmo metastização.

O fator de crescimento do endotélio vascular (FCEV) também desempenha um importante papel na metastização, pois é um dos responsáveis pela angiogénese tumoral, processo

crucial para o crescimento e metastização de tumores malignos. O FCEV liga-se a dois recetores do fator de crescimento do endotélio vascular (RFCEV) diferentes, o RFCEV-1 e o RFCEV-2. Porém, só a ligação a este último recetor permite que ocorra a angiogénese (Al-Dissi, Haines, Singh & Kidney, 2007). O FCEV pode também aumentar a permeabilidade vascular e diminuir a apoptose tumoral. A expressão aumentada do FCEV foi associada ao elevado grau de malignidade de vários tumores em humanos (Al-Dissi et al., 2007). O grau de angiogénese pode ser expresso como densidade intratumoral de microvascularização (DMV), como índice de proliferação celular (IP) e como índice apoptótico tumoral (IA) (Al-Dissi et al., 2007). Neste estudo, Al-Dissi et al. (2007) concluíram, ao contrário do que seria espetável, que a correlação existente entre o grau histológico do CEC no cão e a expressão do FCEV e do RFCEV-2 é moderada. Este resultado pode dever-se ao diminuto tamanho da amostra em estudo (19 indivíduos). Porém, verificaram a existência de correlação entre a expressão do FCEV e do RFCEV-2 e a expressão do IP no CEC, o que pode sugerir que o FCEV desempenha um papel na estimulação da divisão celular, como foi demonstrado em alguns tipos tumorais em humanos. Compararam também o CEC com um tumor benigno, o tricoepitelioma (TCP), e verificaram uma maior DMV no CEC, o que pode ser reflexo da capacidade de proliferação e metastização dos tumores malignos ao promoverem a angiogénese. No entanto, a neoangiogénese inflamatória, associada à presença de queratina livre na derme em casos de CEC, pode também ser responsável pelos níveis elevados da DMV. Outro grupo de investigadores, Maiolino, Vico e Restucci (2000), comparou a expressão do FCEV em CEC e em tumores de células basais (TCB) (benigno) em cães. Concluíram que todas as amostras de CEC expressaram o FCEV, embora com intensidades diferentes, enquanto que as amostras de TCB não expressaram ou expressaram este fator com pouca intensidade. Esta constatação pode dever-se a diferenças no IP entre os dois tipos tumores. Neste estudo, a presença do FCEV foi expressa com maior intensidade em CEC dos dígitos, que se sabe ter uma maior tendência para metastizar, o que, mais uma vez, sugere que a expressão do FCEV está associada à malignidade intrínseca do tumor e ao seu potencial de crescimento e metastização. Encontraram também expressão do FCEV em células inflamatórias infiltrativas do tumor, como macrófagos e plasmócitos, o que pode desempenhar um papel importante na progressão tumoral.

O fator histológico com maior valor preditivo para a metastização em CEC em humanos é a profundidade. Lesões com menos de 2mm de profundidade não metastizam, enquanto lesões com mais de 5-6 mm ou que invadam o músculo, cartilagem ou osso, têm um potencial metastático aproximadamente 20% superior (Gross et al., 2005).

A OMS propôs um sistema de estadiamento de tumores de pele em cães e gatos que permite classificar a evolução tumoral e, com base nesses dados, tomar as decisões terapêuticas mais apropriadas (Tabela 1). Infelizmente, o sistema de estadiamento atual da

OMS para medicina veterinária não tem estadio intermédio entre T_{is} (carcinoma *in situ*) e T₁ (< 2cm), o que impede que se faça a distinção entre CECs superficiais invasivos e os CECs que se encontram na parte profunda da derme (Gross et al., 2005).

Tabela 1 – Classificação TNM de tumores com origem na epiderme e derme de cães (exceto linfoma e mastocitoma) (Morris & Dobson, 2002).

T-Tumor Primário

Tis-Carcinoma pré-invasivo (carcinoma *in situ*)

T0-Sem evidência de tumor

T1-Tumor com diâmetro máximo < 2cm, superficial ou exofítico

T2-Tumor com diâmetro máximo 2-5cm, ou com invasão mínima independentemente do tamanho

T3-Tumor com diâmetro máximo > 5cm, ou com invasão subcutânea, independentemente do tamanho

T4-Tumor invade outras estruturas como fáscia, músculo, osso ou cartilagem

(Quando ocorre mais do que um tumor em simultâneo, deve ser registado o número exato de tumores. O tumor com a categoria T mais elevada é selecionado, e o número de tumores indicado em parenteses. Cada novo tumor que vier a surgir deve ser classificado independentemente).

N-Linfonodos regionais (LR)

N0- Sem evidência de envolvimento de LR

N1-Linfonodos ipsilaterais com mobilidade

N1a. Linfonodos considerados sem aumento de tamanho

N1b. Linfonodos considerados aumentados de tamanho

N2-Linfonodos contralaterais ou bilaterais com mobilidade

N2a. Linfonodos sem crescimento

N2B Linfonodos com crescimento

N3-Linfonodos fixos

(-) histologicamente negativos, (+) histologicamente positivo

M-Metástases distantes

M0-Sem evidência de metástases distantes

M1-Metástases distantes detetáveis (locais específicos)

Os CECs bem diferenciados e moderadamente invasivos exibem um número elevado de linfócitos T CD3+, linfócitos B CD79+, plasmócitos produtores de imunoglobulinas G (IgG) e expressam o complexo principal de histocompatibilidade II em maior proporção do que as neoplasias invasivas ou moderadamente diferenciadas. Este facto levanta a hipótese de que a resposta imunológica, celular e humoral, pode diminuir o crescimento tumoral. Porém não é capaz de induzir a regressão tumoral completa (Scott et al., 2001).

Em alguns casos de cães com CEC foi detetada a presença de hipercalcémia, que é considerada uma síndrome paraneoplásica e, quando presente, agrava o prognóstico. Existe hipercalcémia quando os cães apresentam uma concentração total de cálcio no soro superior a 12,0mg/dl ou quando a concentração de cálcio ionizado no soro é superior a 5,8 mg/dl (Schenck & Chew, 2006). A hipercalcémia paraneoplásica pode ser causada pela osteólise local (decorrente da intensa reabsorção provocada pelos osteoclastos em áreas

circundantes às células malignas) ou pode ser devida a hipercalcemia humoral maligna (causada pela secreção de péptido relacionado com paratormona, PrPTH, por parte das células tumorais). Pode também ser provocada por hiperparatireoidismo ectópico ou pode ainda ser devida à produção de $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ pelo tumor (Farias, 2005). A sua manifestação clínica vai depender da magnitude da elevação do cálcio, da rapidez com que se processa essa elevação e da sua duração. A hipercalcemia pode manifestar-se por poliúria/polidipsia, falência renal, anorexia, vômito, diminuição da defecação, fraqueza generalizada, arritmias cardíacas (por efeito direto no miocárdio ou efeito secundário à mineralização que se manifesta por hipertensão, bradicardia, encurtamento do intervalo QT e bloqueio atrio-ventricular), convulsões, coma e morte (Chun, 2010). Em humanos, os pacientes com CECs apresentam hipercalcemia paraneoplásica relacionada com a secreção de PrPTH por parte do tumor (Farias, 2005). No primeiro caso relatado de hipercalcemia provocada por CEC cutâneo em cães, o animal apresentava letargia, anorexia, perda de peso, vômito intermitente, caquexia e lesões cutâneas ulceradas. A glândula paratireoide e os ossos do paciente encontravam-se inalterados. Os dados clínicos do animal levaram o autor a afirmar que a hipercalcemia foi induzida por um PrPTH secretado pelo tumor (Grain, 1982). Apesar de se tratar de uma hipercalcemia secundária a uma neoplasia, o seu controlo terapêutico pode ser necessário, pelo menos até que a terapêutica antineoplásica comece a fazer efeito (Farias, 2005).

A diferença crucial entre células normais e células neoplásicas são discretas mudanças que ocorrem em genes específicos que controlam a proliferação e homeostasia dos tecidos (Scott et al., 2001). Células que tenham lesão do seu ADN ou falta de precursores nucleótidos e/ou de proteínas apropriadas para replicação celular, vão suspender o seu ciclo celular, o que normalmente ocorre na fase G1/S. Quando o ADN é reparado e os níveis de precursores e proteínas são suficientes, a célula recomeça o ciclo celular (Kitchell & Dervisis, 2010).

Dois tipos principais de genes reguladores do crescimento tumoral foram associados à origem de neoplasias: os oncogenes, que codificam proteínas que fornecem várias vantagens no crescimento tumoral, e os genes supressores de tumores, que codificam proteínas que restringem a proliferação e diferenciação celular (Scott et al., 2001). Um exemplo de gene supressor de tumores é o *p53*, também conhecido por “guardião do genoma” (Scott et al., 2001). O *p53* participa na reparação do ADN celular, diferenciação, plasticidade, morte celular programada e monitorização/regulação do ciclo celular, permitindo que a célula responda de forma apropriada ao stress e dano genético a que é exposta. É um local vulnerável e sofre mutações frequentes (Scott et al., 2001). Coulter, Wolber e Tron (1995), num estudo que desenvolveram em medicina humana, verificaram que o gene *p53* é um alvo frequente dos diferentes fatores carcinogénicos que normalmente estão envolvidos na etiologia do CEC (radiação UV e o PV, por exemplo). Observaram

também que a proteína p53 tinha a sua expressão aumentada na mucosa aparentemente não displásica adjacente a alguns CECs, o que levanta a suposição de que a mutação de *p53* é uma etapa molecular inicial no desenvolvimento do CEC.

A superexpressão da fosfoproteína p53 está positivamente associada com a mutação do gene. Esta superexpressão foi detetada na maioria dos casos de CEC (Scott et al., 2001). Mutações no gene *p53* ocorrem em aproximadamente 50% de todas as neoplasias em humanos (Scott et al., 2001). No ano de 1996, Teifke e Löhr detetaram que, na sua amostra, apenas 29,5% dos cães com CEC cutâneo tiveram resultado positivo na pesquisa da proteína p53, ao contrário de animais de outras espécies em que mais de 50% dos indivíduos expressaram esta proteína.

Foi também detetada a deleção de 1bp no codão 89 do exão 4 do gene *p53* em um cão com CEC (Scott et al., 2001). Estudos sugerem que o gene *p53* é capaz de inibir a expressão de ciclooxigenase-2 (COX-2), bloqueando assim a ação das prostaglandinas (PGs) na proliferação celular e apoptose (Subbaramaiah, Altorki, Chung, Mestre, Sampat & Dannenberg, 1999). Como na pele lesada por raios UV existe mutação do gene *p53*, esta mutação pode contribuir para os elevados níveis de COX-2 que se registam em cães com CEC (Almeida, Piché, Sirois & Doré, 2001).

A chave para a mitogénese do CEC é a ativação de recetores do fator de crescimento epidérmico (RFCE) (Xie, Chen, Liao, Jiang, Liu & Pennypacker, 2010). Xie et al. (2010) realizaram um trabalho, no âmbito de medicina humana, e chegaram à conclusão que a fosfolipase C- γ 1 é necessária para que o RFCE induza a mitogénese celular do CEC. Contudo, e ao contrário do que seria de esperar, a inibição da atividade catalítica desta fosfolipase não demonstrou ter efeito negativo na indução da mitogénese celular do CEC por parte do RFCE.

Também as ciclinas regulam o ciclo celular e estão associadas a quinases dependentes da ciclina em várias fases deste ciclo. Em humanos, a superexpressão de ciclina D e a regulação decrescente da expressão da ciclina E podem estar envolvidas na carcinogénese de queratinócitos (Scott et al., 2001). A proteína p27 é um membro da família de inibidores de quinases dependentes da ciclina e Ki-67 é um marcador de proliferação da cinética celular usado na diferenciação entre neoplasias da epiderme e dos folículos pilosos em cães (Sakai, Yamane, Yanai, Shirai & Masegi, 2001). Sakai et al. (2001) detetaram que na pele normal de cães as células suprabasais (não são proliferativas) expressaram fortemente p27, enquanto que apenas um pequeno número de células basais e células da matriz pilosa, que apresentavam forte positividade para Ki-67, expressaram a presença de p27. No CEC canino, verificaram níveis de p27 inferiores aos níveis registados em outros tumores benignos que também fizeram parte do estudo. O Ki-67, pelo contrário, apresentou valores mais elevados em amostras de CEC do que nas amostras dos tumores benignos em estudo. No referido estudo, o CEC apresentou expressão de p27 mais intensa em áreas centrais do

tumor, como focos de queratinização, mas pouca reatividade para esta proteína foi verificada nas células periféricas do epitélio afetado. Constataram exatamente o oposto no caso da expressão de Ki-67. Estes resultados sugerem que p27 é capaz de suprimir a proliferação celular na diferenciação da pele normal em cães. Os autores consideraram ainda possível que a alteração genética que se verificou no cão, esteja associada, não com a neoplasia de pele, mas sim com um aumento da degradação de proteínas p27 pelas proteases. A expressão de p27 pode ser usada como marcador de análise da cinética celular em pacientes com CEC.

A proteína associada à diferenciação dos queratinócitos (Kdap) pode atuar como reguladora solúvel da cornificação e/ou descamação dos queratinócitos (Yagihara, Kinjo, Kobayashi, Tsuji, Nishimura, Shinozaki, Tamura, Isotani, Najagaki, Takahashi, Ono, Washizu & Bonkobara, 2009). Num estudo realizado por Yagihara et al., (2009), os investigadores verificaram que na pele normal do tronco de cães, a Kdap (proteína e ARNm) expressa-se em queratinócitos granulares, com polaridade para a parte apical das células, o que sugere que a Kdap está presente em grânulos lamelares, tal como acontece em humanos. Em casos de hiperplasia da epiderme, a Kdap foi encontrada dispersa pela camada espinhosa, o que contrasta com casos de CEC em que não foi possível detetar a Kdap (porque células neoplásicas falham no processo terminal de diferenciação). Como a proteína Kdap se expressa seletivamente no epitélio estratificado escamoso do cão, possivelmente está associada à queratinização da epiderme nesta espécie.

Romanucci, Bongiovanni, Marruchella, Marà, Guardo, Preziosi e Salada (2005) mediram a expressão de algumas proteínas de choque térmico (PCTs), PCT27, PCT72 e PCT73, em CEC canino. As PCTs estão fortemente ligadas ao controlo do crescimento celular, diferenciação e comportamento biológico de várias neoplasias cutâneas em cães e podem também estimular os linfócitos T e os monócitos a sintetizar citocinas. Os investigadores detetaram PCT27 na pele saudável de cães, com localização no citoplasma de células dos estratos granuloso e espinhoso. No entanto, em tecidos neoplásicos esta proteína foi detetada em menor quantidade e essencialmente em áreas de diferenciação escamosa. Assim, parece que a expressão de PCT27 está diretamente relacionada com a diferenciação celular, podendo também ser usada como marcador da diferenciação de queratinócitos. A sua concentração pode ser usada como indicador de malignidade. Nada se pôde concluir relativamente a PCT72 e PCT73.

Outra proteína estudada no CEC de cães foi a survivina, que atua inibindo a apoptose. Bongiovanni, Colombi, Fortunato e Salda (2009) identificaram a presença desta proteína dispersa pelo núcleo de células basais da epiderme da pele normal em cães, mas também, com uma expressão mais significativa, no núcleo de vários tipos celulares da epiderme de cães com CEC. A survivina citoplasmática foi raramente identificada em CEC de humanos, mas em amostras de CEC de cães 84,2% expressaram esta proteína. Parece que a

survivina nuclear está relacionada com a promoção da proliferação celular e a survivina citoplasmática à sobrevivência da célula. Em comparação com a pele normal, verificaram um aumento da survivina nuclear na epiderme proliferativa subjacente a zonas com CEC. Demonstraram também um aumento da expressão de survivina em lesões pré-neoplásicas e lesões neoplásicas, o que evidencia uma associação entre a expressão de survivina e o desenvolvimento de CEC. Esta proteína expressa-se com maior intensidade nos componentes altamente infiltrativos deste tipo de tumor e está também associada com o alto grau de malignidade do mesmo. Neste estudo, os investigadores não verificaram relação entre os níveis de survivina e o grau de apoptose ou IM.

3- A DERMATITE SOLAR E O CEC CUTÂNEO NO CÃO

Nos animais de companhia pode ocorrer uma síndrome relacionada com a radiação solar, designada por fototoxicidade, é a reação clássica de queimadura após exposição solar (Tatibana, Veado, Santana & Costa-Val, 2011). A dermatite solar é a reação fototóxica mais comum. É uma dermatopatia de natureza ambiental que ocorre quando existe exposição contínua aos raios UV, quer pela incidência direta, quer pela radiação refletida (por exemplo neve e areia). Atualmente, devido às mudanças atmosféricas, é reconhecida como uma dermatopatia crescente (Tatibana et al., 2011).

Com a exposição contínua aos raios UV a dermatite solar pode progredir para uma displasia epitelial designada por QA (Tatibana et al., 2011). O termo queratose designa proliferações reativas de queratinócitos (Gross et al., 2005). A maioria dos autores, como Hargis et al. (1977), definem QA como uma lesão pré-neoplásica que pode progredir para CEC. No entanto, outros autores, como Gross et al. (2005), julgam que a QA deve ser considerada como uma forma de CEC *in situ*, sugerindo o termo carcinoma actínico *in situ*, em vez de QA, por considerarem ser mais adequado.

Animais com pele despigmentada (branca) ou pouco pigmentada (clara), hígida ou lesada, com pouco revestimento piloso (o que permite que os raios atinjam a epiderme mais facilmente) e habitantes de zonas tropicais são mais acometidos por lesões actínicas (reações provocadas pela radiação solar). Estas lesões são mais comuns em animais de idade avançada que vivem em ambientes externos e que apreciem “banhos de sol” (principalmente se o fazem em pavimento refletor) ou em animais que sejam mantidos em áreas sem sombra. Machos e fêmeas podem ser igualmente afetados (Tatibana et al., 2011). Cães de raça American Staffordshire Terrier, Basset Hound, Bull Terriers, Bulldog, Pit Bull, German Shothaires Pointes, Boxers brancos, Whippets, Dálmata e Beagle são os mais acometidos por lesões actínicas (algumas destas raças são as mesmas que foram referidas

anteriormente como tendo maior predisposição para CEC) (Scott et al., 2001; Gross et al., 2005). No estudo realizado por Hargis et al. (1977), com a colónia de cães Beagle no Colorado, a QA desenvolveu-se em 25% dos animais da amostra, fêmeas e machos com idades compreendidas entre 3 e 7 anos. Dos animais que desenvolveram QA, 20-26% progrediram para CEC invasivo, com lesões simples ou múltiplas.

A radiação UV faz parte da radiação solar e nela podemos distinguir os raios UVA, UVB e UVC. Os raios UVC (< 290nm) lesam as células, mas não atravessam a camada do ozono. Os UVB (290-320 nm) são os responsáveis pelo eritema e queimadura em animais com intensa exposição solar. São mil vezes mais eritemogénicos do que UVA (320-400nm). Os UVA, por sua vez, estão relacionados com reações de fotossensibilização e penetram mais profundamente na pele do que os raios UVB (Scott et al., 2001). A radiação UVA por si só não parece ser capaz de provocar CEC, mas pode interagir com o efeito biológico de UVB (Markey, 1995).

A camada de ozono constitui uma barreira natural na estratosfera que absorve grande parte da radiação solar antes que esta atinja a superfície terrestre (Rubenstein, Hufford, Downham, Trancik & Swerlick 1999). Aproximadamente 90% dos raios UVB são absorvidos pela camada estratosférica de ozono, mas os restantes 10% acabam por atingir a superfície terrestre (Rubenstein et al., 1999). O ozono da estratosfera tem um comportamento extremamente dinâmico, logo a sua espessura pode variar constantemente (Clarke, 2006). A diminuição da camada do ozono na zona da Antártida desde os anos 80, principalmente provocada pela produção de clorofluorcarbonetos (CFC's), levou a um aumento de 8% dos raios UVB que atingem a superfície terrestre ao nível do hemisfério sul (especialmente a latitudes entre -30 e -60°). Este facto provocou um aumento da incidência de tumores cutâneos não melanocíticos no Homem e em animais que habitam nessas latitudes (Morris & Dobson, 2002; Rubenstein et al., 1999). Por 1% de diminuição da camada de ozono há um aumento de 1-2% de radiação UVB que chega à superfície terrestre (Clarke, 2006). Dada esta estimativa e, tendo em conta que é exetável que a depleção de ozono continue durante o próximo século, mesmo com a aplicação do Protocolo de Montreal, parece provável que o número de tumores de pele não melanocíticos continue a aumentar (Rubenstein et al., 1999).

A pele também contém barreiras naturais contra a radiação UV. São elas: o estrato córneo da epiderme, a melanina e os carotenos. Apesar da existência destas barreiras, elas podem ser facilmente ultrapassadas com a exposição prolongada e repetida à radiação solar (Scott et al., 2001).

A latitude e altitude também são de extrema importância na incidência de lesões actínicas. A espessura da atmosfera é menor em altitudes mais elevadas, logo tem menos oxigénio e matéria particulada para absorver e disseminar os raios UV (Hargis, 2005). Por cada aumento de 300 metros na altitude a intensidade solar aumenta 4% (Scott et al., 2001). Em

latitudes mais elevadas, o ângulo de entrada da luz solar na atmosfera faz com que o trajeto que esta percorre através da camada de ozono seja mais longo do que em latitudes mais baixas (Hargis, 2005). A incidência de CEC duplica com cada 10^0 de redução da latitude (Markey, 1995). Pelo anteriormente exposto, conclui-se que a lesão solar tem maior incidência em altitudes elevadas, latitudes baixas e em animais que passam longos períodos expostos ao sol (Hargis, 2005).

Da radiação UV, uma parte é refletida, outra é absorvida e outra é ainda transmitida. A radiação absorvida pela pele vai aumentar os níveis de energia dos cromóforos (moléculas que absorvem radiação). Este aumento de energia vai resultar em vários processos bioquímicos que podem, eventualmente, lesar qualquer componente celular. A exposição à luz solar provoca ainda alterações imunológicas, tanto a nível local como a nível sistémico (Scott et al., 2001). A patogénese da fototoxicidade não está totalmente esclarecida. Porém, sabe-se que se trata de uma reação multifatorial. Quando a radiação solar é absorvida pela pele há lesão tecidular porque se formam moléculas radicais livres, como os radicais superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e os radicais hidróxido (OH^-), que podem causar lesão aos ácidos nucleicos, proteínas, membranas ou organelos celulares (Tatibana et al., 2011). A formação de dímeros de timina entre as bases pirimidínicas do ADN é talvez a lesão mais frequente, mas esta pode ser reparada com precisão pelo sistema enzimático de destoxificação, que remove a zona danificada e sintetiza uma nova cadeia de ADN (Tatibana et al., 2011). Se a célula alterada sofre mitose antes que a reparação ocorra será deixada uma falha no local do dímero de timina na cadeia de ADN, essa falha é reparada por métodos de reparação pós-replicação. Porém, nestas circunstâncias, a probabilidade de que ocorra mutação, principalmente no gene *p53*, e que consequentemente se desenvolva uma neoplasia, como o CEC, é maior (Tatibana et al., 2011).

A dermatite solar acomete, além da epiderme, os vasos sanguíneos superficiais e o plexo vascular profundo. Os radicais livres esgotam os antioxidantes, recrutam neutrófilos e podem destruir e degradar os diferentes componentes do tecido conjuntivo (Tatibana et al., 2011). A exposição solar pode ainda originar, embora menos frequentemente, hemangiomas e hemangiossarcomas (Tatibana et al., 2011). O tipo de neoplasia que se forma vai depender do grau de penetração dos raios solares na pele, grau esse que é influenciado pela espessura do epitélio (Hargis, 2005).

A radiação solar pode provocar lesões únicas ou múltiplas na pele de cães (Tatibana et al., 2011). A progressão das lesões solares inicia-se por eritema (causado por aquecimento e possivelmente também por alterações fotoquímicas) e descamação (Figura 2). Nesta fase, designada por dermatite solar, o animal não manifesta incómodo e, dependendo da localização, estas lesões podem não ser reconhecidas pelo proprietário. A pele encontra-se quente, macia e edemaciada (Hargis, 2005). Na formação de eritema por queimadura solar pode estar envolvida a difusão de mediadores inflamatórios, como citocinas que são

libertadas por queratinócitos danificados pela radiação ou pela ação direta da luz UV nas células endoteliais. Existe um aumento da pigmentação da pele devido à fotoxidação da melanina preexistente, mas também pelo efeito mais duradouro da melanogénese (Hargis, 2005). Entre um e três dias depois a pele da lesão torna-se frágil e pode necrosar (Scott et al., 2001).

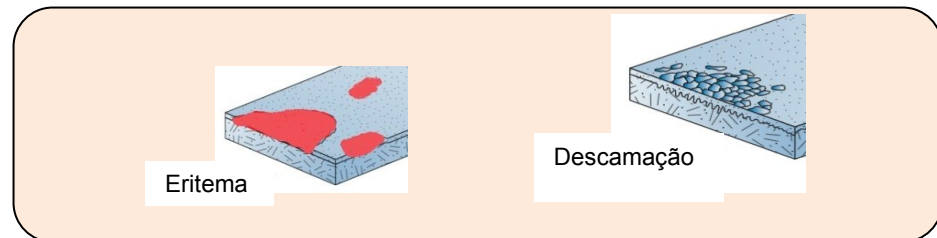


Figura 2 – Dermatite solar, que se manifesta por eritema generalizado na pele do abdómen ventral e face interna dos membros posteriores em cadela de raça Dogue Alemão. (Original).

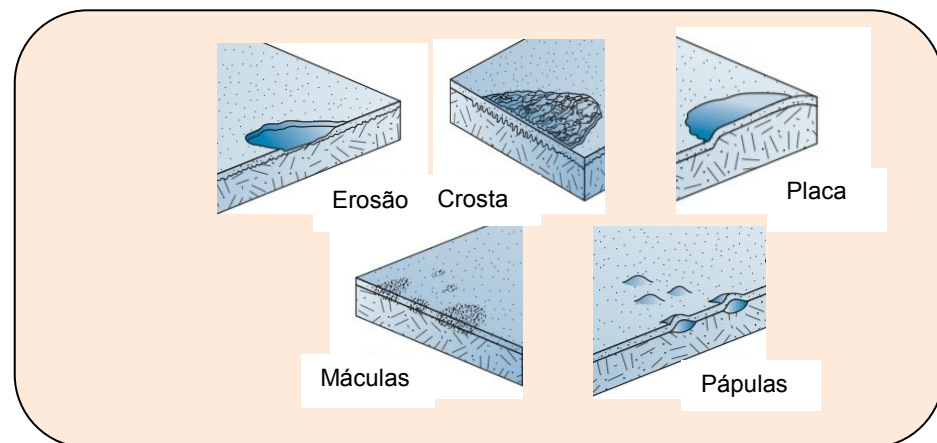
Se a exposição solar continuar, vão-se formar crostas, erosões, comedões, alopecia perilesional, placas hiperqueratóticas endurecidas, espessamentos, máculas mal definidas e pápulas. Este tipo de lesões já provoca desconforto ao animal, pois estão associadas a dor e prurido. Podem desencadear auto-traumatismo por o animal se coçar, levando à formação de úlceras. Estas lesões são características de QA (Gross et al., 2005). Existe também a possibilidade de se formarem comedões actínicos que, quando roturam, libertam queratina, provocando dermatite piogranulomatosa com infeção bacteriana secundária (Tatibana et al., 2011; Gross et al., 2005). Ocasionalmente estas lesões sofrem necrose, fistulizam e formam cicatrizes (Scott et al., 2001). Ao passar a mão nas áreas lesadas sentem-se irregularidades causadas pelo facto de a pele despigmentada estar espessada, enquanto a pele pigmentada se encontra com a espessura normal (Scott et al., 2001). Grandes lesões nodulares ulceradas são o sinal mais indicativo da existência de CEC (Gross et al., 2005). Com o tempo o tumor progride em tamanho e profundidade (Hargis, 2005).

A QA forma lesões que podem continuar ativas formando crostas e descamando por muito tempo. Podem levar anos a progredir para CEC. O mecanismo pelo qual a QA evolui para CEC não é precisamente conhecido, mas provavelmente envolve a transformação

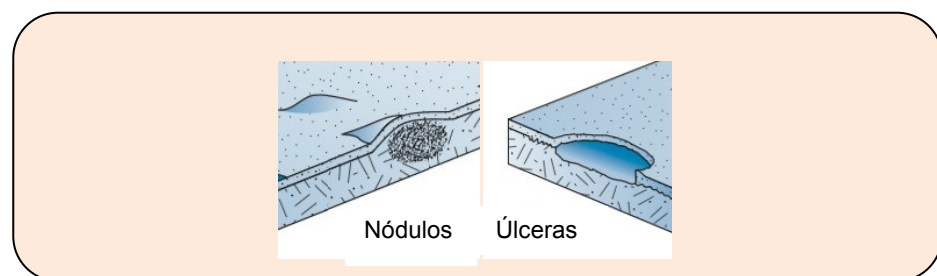
monoclonal maligna dos queratinócitos provocada pela exposição solar contínua (Gross et al., 2005).



a) Lesões cutâneas características de dermatite solar;



b) Lesões cutâneas características de queratose actínica;



c) Lesões cutâneas características de carcinoma espinocelular;

Figura 3 – Representação esquemática da evolução da dermatite solar até CEC. (Adaptado de Cadogan, 2012).

O diagnóstico destas lesões é feito com base na anamnese (proprietários relatam hábitos de exposição solar do seu animal) e na existência de lesões compatíveis no exame físico, mas a confirmação apenas pode ser feita por biópsia de pele e exame histopatológico (Tatibana et al., 2011).

Um dos maiores desafios de fazer o diagnóstico diferencial entre QA e CEC inicial ocorre nos casos em que a membrana basal não está definida, o que pode ser devido a um corte fragmentado, à presença de infiltrado inflamatório intenso ou à amostra não ser representativa (Costa, 2009).

Uma vez feito o diagnóstico, as lesões existentes devem ser tratadas, devendo-se também atuar no sentido da prevenção do aparecimento de novas lesões (Tatibana et al., 2011). Lesões de dermatite solar cicatrizam espontaneamente com restrição solar (vidros das janelas fazem apenas um bloqueio parcial das radiações). A restrição solar pode ser feita com recurso a roupas (por exemplo, camisolas ou t-shirts) e uso de protetores solares adequados (alguns animais ficam incomodados com o uso de protetores solares e retiram-no por lambedura). Os bloqueadores solares, barreiras físicas à base de óxido de zinco, são agentes opacos ou coloridos, semicondutores, que refletem e dispersam os raios solares. Já os protetores solares orgânicos, à base de dióxido de titânio, atuam como uma barreira química que absorve os raios incidentes. Muitos absorvem os raios UVB e alguns contêm ingredientes que também protegem contra UVA (Tatibana et al., 2011). Os produtos usados devem ser à prova de água e com fator de proteção solar superior a 30. No caso de o uso do protetor solar ser inevitável, este deve ser aplicado, no mínimo, duas vezes por dia, 15 a 30 minutos antes da exposição solar (Tatibana et al., 2011).

Se existir infeção bacteriana concomitante devem ser administrados antibióticos, pelo menos, por 3 semanas (Tatibana et al., 2011). Em situações mais avançadas o uso de corticosteroides, como a prednisolona (1mg/Kg, SID), durante sete a dez dias, pode ser benéfico para reduzir a inflamação. A administração de β -caroteno (30mg, PO, BID, durante 30dias, seguido de SID por tempo indeterminado) combinada com doses anti-inflamatórias de prednisolona também pode ser eficaz. No entanto, em casos mais graves, o uso de β -caroteno não demonstrou ter benefícios (Scott et al., 2001). É possível que os carotenoides consigam extinguir o estado de tripleto do oxigénio singleto e de outros radicais livres, pois formam um complexo lipídico-caroteno na pele que absorve a radiação solar prejudicial. A vitamina A (e seus derivados como etretinato, acitretina e isotretinoína), E e C, PO, também demonstraram ser úteis em alguns casos (Tatibana et al., 2011).

O uso de tatuagens ou marcadores de tinta preta em locais de pele despigmentada e com pouco pelo tem-se demonstrado eficaz no tratamento de dermatite solar canina (Nesbitt, 1998; Scott et al., 2001). Na Austrália, foram desenvolvidos fatos feitos de material semelhante aos dos fatos utilizados por surfistas para cães da raça Bull Terrier. Estes fatos foram eficazes em prevenir a dermatite solar do tronco e sua eventual progressão para CEC (Scott et al., 2001).

O Centro de investigação da Nestlé® constatou que cães aos quais foi administrado um suplemento alimentar composto por, pelo menos, um probiótico ou uma cultura sobrenadante e, pelo menos, uma levedura e/ou um carotenoide, antes ou durante a

exposição solar, apresentaram menos efeitos negativos resultantes da radiação UV, ou seja, esta suplementação teve um efeito fotoprotetor da pele (Breton & Franz, 2009).

O prognóstico de lesões actínicas de pele vai depender da cronicidade do processo. Em lesões iniciais o prognóstico é excelente apenas com restrição solar, podendo as lesões existentes cicatrizar e regredir por completo. Porém, quando as lesões são crónicas e se encontram ulceradas é frequente que deixem cicatriz, cicatriz essa que, caso seja exposta ao sol, pode progredir para CEC (Tatibana et al., 2011; Scott et al., 2001).

4- O PAPILOMAVÍRUS E O CEC CUTÂNEO NO CÃO

Há alguns anos atrás considerava-se que o PV pertencia à família Papovaviridae. Atualmente, a classificação foi revista e o PV passou a fazer parte da família Papillomaviridae (Munday & Kiupel, 2010b). É um vírus pequeno, de ADN de cadeia dupla, sem envelope e é espécie específico (Rassnick, 2010). Demonstra forte tropismo para mucosas e epitélio escamoso (Gross et al., 2005). É oncogénico, contagioso e infeccioso (Macy & Reeds, 2010).

O genoma do PV pode ser dividido em três partes, *later region* (L), *early region* (E) e *long control region* (LCR). Os genes *L1* e *L2* codificam as proteínas da cápside viral. A classificação dos PV faz-se com base na caracterização da proteína L1. A região E consiste em genes, como *E1* e *E2*, que regulam a replicação de ADN, e genes, como *E6* e *E7*, que têm potencial oncogénico, pois atuam na proliferação e imortalização celular (Scott et al., 2001). A oncoproteína E6 pode provocar degradação da proteína p53, estimulando assim o aumento da divisão celular e síntese de ADN do hospedeiro, o que provoca instabilidade cromossomal e acumulação de várias mutações nas células afetadas (Scott et al., 2001). A proteína E2 é um importante fator de transcrição viral e regula a expressão dos oncogenes *E6* e *E7*. Já a proteína E4 liga-se à queratina e facilita a produção de viriões, pois interfere na diferenciação das células normais (Scott et al., 2001).

Após a infeção dos queratinócitos da camada basal, que normalmente ocorre através descontinuidades existentes no epitélio, o genoma do PV multiplica-se nas camadas suprabasais. A expressão do genoma viral está ligada à diferenciação de queratinócitos, isto porque o vírus apenas sofre replicação em queratinócitos totalmente diferenciados (Nicholls & Stanley, 1999). A infeção de células epiteliais leva a marcada hiperplasia celular e aumento do IM, provocando degenerescência e hiperqueratinização celular (Macy & Reeds, 2010). Em cães, este vírus provoca papilomatose, tem carácter benigno e, de forma geral, apresenta-se como proliferações fibrovasculares exofíticas da derme cobertas por epitélio hiperplásico. Porém, nem todas as papilomatoses caninas são causadas por este vírus.

Existem também formas de papilomatose não viral (idiopáticas), típicas de animais idosos (Rassnick, 2010).

Gross et al. (2005) e Sharif (2006) afirmam que a papilomatose representa entre 1% e 2,5% de todos os tumores de pele em cães. Já Thomas e Fox (1998) e Rodaski e Werner (2009) referem que a papilomatose constitui 12,5% desses tumores. No Homem foram identificados mais de 130 tipos diferentes de PV. Em cães, atualmente estão descritos sete tipos, o Papilomavírus oral canino (PVOC), *Canis familiaris* Papilomavírus tipo-2 (CfPV2), Papilomavírus canino tipo-3 (PVC3), Papilomavírus canino tipo-4 (PVC4), Papilomavírus canino tipo-5 (PVC5), Papilomavírus canino tipo-6 (PVC6) e Papilomavírus canino tipo-7 (PVC7) (Munday, O'Connor & Smits, 2010a).

Os papilomas cutâneos caninos são proliferações da epiderme e estão associados com infecções por PVOC, CfPV2, PVC6 e PVC7 (Munday et al., 2010a). Podem ser pedunculados ou sésseis e sangram quando sofrem um trauma (Vail & Withrow, 2001; Peterson, 2006). Na sua maioria regredem espontaneamente e raramente sofrem transformação maligna para CEC, o que, quando ocorre, normalmente é em cães imunodeprimidos (Munday et al., 2010a). Outro tipo de lesões causadas por PVC são as placas virais (verruga plana ou nevus epidérmico pigmentado), estas exibem ortoqueratose moderadamente marcada e estão associadas a infecções com PVC3, PVC4 e PVC5. As placas pigmentadas normalmente não regredem espontaneamente, mas estabilizam com aproximadamente 1cm de diâmetro e não têm significado clínico. São frequentes em animais imunodeprimidos (Munday et al., 2010a).

Após a infecção com PV os cães ficam imunes a re-infecções. Esta imunidade fixa-se 3 semanas após a infecção (Nicholls & Stanley, 1999).

O PVOC, o CfPV2, o PVC3 e o PVC4 foram associados com a transformação maligna em CEC (Jagu, Malandro, Kwak, Yuan, Schlegel, Palmer, Huh, Campo & Roden, 2011).

As infecções naturais com PVOC raramente foram associadas com CEC (Figura 4). Existem apenas dois relatos de tal transformação, um caso na cavidade oral e outro na córnea (Bregman, Hirth, Sundberg & Christensen, 1987). Contudo, Bregman et al. (1987) verificaram que ao administrarem vacina viva contra PVOC, por via intramuscular, a 500 cães no seu laboratório e 4000 de um canil, 12 desses 4500 animais desenvolveram lesões proliferativas no local de injeção. Desses 12 casos, 9 foram diagnosticados como CECs bem diferenciados e claramente invasivos. Sabe-se que as interações entre a base genética e os agentes cancerígenos, químicos ou físicos, em células infetadas por PV podem provocar proliferação maligna. No entanto, o que provocou a formação de CEC nestes casos ficou por esclarecer (Bregman et al., 1987). Com vacinas contra PVOC de vírus inativado pela formalina esta transformação maligna nunca foi relatada (Scott et al., 2001; Rodaski & Werner, 2009).



Figura 4 – Papilomatose oral causada por Papilomavírus oral canino (PVOC) (setas) em cadela sem raça definida com 3 anos de idade. (Original).

Em 2007, Yuan, Ghim, Newaome, Apolinario, Olcese, Martin, Delius, Felsburg, Jenson e Schlegel verificaram a existência de um novo PVC, o qual designaram por *Canis familiaris* Papilomavírus tipo 2. Este foi isolado em lesões papilomatosas múltiplas nas almofadinhas plantares de um cão de raça Golden Retriever. A papilomatose cutânea causada por CfPV2 ocorre raramente no cão. Manifesta-se por lesões endofíticas que demoram muito tempo a regredir. Um facto importante é que infeções persistentes com este tipo viral em cães podem progredir para CEC invasivo e metastático. No CfPV2 suspeita-se que o seu potencial oncogénico se deve à proteína E6 e à sua capacidade para se ligar e degradar a proteína do gene supressor de retinoblastoma (pRb). Esta proteína está amplamente relacionada com a transformação maligna das células. Ainda não é clara a forma como CfPV2 induz a progressão neoplásica. Contudo, desvendar a capacidade e a forma como as suas proteínas interagem com pRb parece ser essencial para esse conhecimento (Yuan et al., 2007).

O vírus PVC3 foi isolado em lesões de placas pigmentadas que sofreram transformação maligna para CEC em cães de várias raças, incluindo Leão da Rodésia. Cães de raça Pug também apresentam este tipo de lesões, mas o vírus nelas isolado foi o PVC4. A transformação maligna das placas pigmentadas em cães de raça Pug é rara. No entanto, ainda não são conhecidas razões que justifiquem as diferenças etiológicas e evolutivas existentes entre as placas pigmentadas em cães de raça Pug e cães de outras raças (Tobler, Lange, Carlotti, Ackermann & Favrot, 2007). É possível que a infeção por PV e a exposição solar ajam como cofatores que promovem a transformação maligna de placas virais (Munday et al., 2010a).

Animais imunodeprimidos têm maior predisposição para desenvolver lesões provocadas por PV. Por exemplo, com a terapêutica com ciclosporina os animais estão 3 vezes mais predispostos a desenvolver CEC. O mecanismo responsável por este facto ainda não é conhecido, mas pensa-se que possa estar relacionado com a capacidade da ciclosporina em acelerar a progressão de lesões causadas por raios UV ou com a seleção de clones de ADN ser feita após replicação e disrupção de imunovigilância, com consequente proliferação anormal de células (Callan, Preziosi & Mauldin, 2005).

A transformação maligna de uma célula normal, provocada por vírus oncogénicos, normalmente inicia-se com a integração de todo, ou de uma parte, do ADN viral (ou cópia de ADN do ARN retroviral) no genoma da célula hospedeira. Durante o processo de integração viral pode ocorrer a superexpressão ou inativação de genes normais do hospedeiro, resultando na transformação maligna da célula ou no seu crescimento descontrolado. Foram também identificados genes virais específicos (oncogenes) que, quando se expressam em células normais, provocam transformação maligna (Macy & Reeds, 2010). No caso do PV em humanos, após a integração do genoma viral no ADN da célula hospedeira, o alvo principal é o gene *p53*, mas este vírus atua também em outros mecanismos de regulação celular do hospedeiro. Assim, provoca destabilização no genoma do hospedeiro, criando um ambiente favorável para a replicação viral (Gross et al., 2005). É possível que a inativação de *p53* seja a causa da progressão de algumas lesões papilomatosas para CEC, uma vez que a maioria dos papilomas são *p53* negativos, mas 1/3 dos casos de CEC cutâneo são *p53* positivos (Teifke, Löhr & Shirasawa, 1998). Células infetadas por PV e que sofreram progressão maligna contêm o ADN viral integrado ou de forma episomal e normalmente não produzem viriões. A produção de viriões e a transformação viral são considerados processos exclusivos, porque a replicação viral provoca morte celular (Bregman et al., 1987). Acredita-se que a estimulação inicial e a transformação da célula infetada por PV sejam seguidas de perda do ADN viral após certo tempo, este facto poderia justificar que apenas uma minoria dos CECs tenham sido positivos à identificação de antígeno viral (Teifke et al., 1998).

A maioria dos CECs em humanos, gatos e cães desenvolvem-se em animais imunocompetentes em áreas de QA. Estando o CEC *in situ*, na maioria das vezes, associado à exposição à radiação UV é possível que o PV atue como seu cofator, bloqueando a apoptose de células cujo ADN foi lesado pela radiação UV (Figura 5). Contudo, apesar de o ADN do PV ter sido detetado em CEC *in situ* de humanos, gatos e cães, a presença comum do PV em pele normal (infecção assintomática) torna complicado provar que PV influencia a formação de neoplasias (Munday & Kiupel, 2010b).

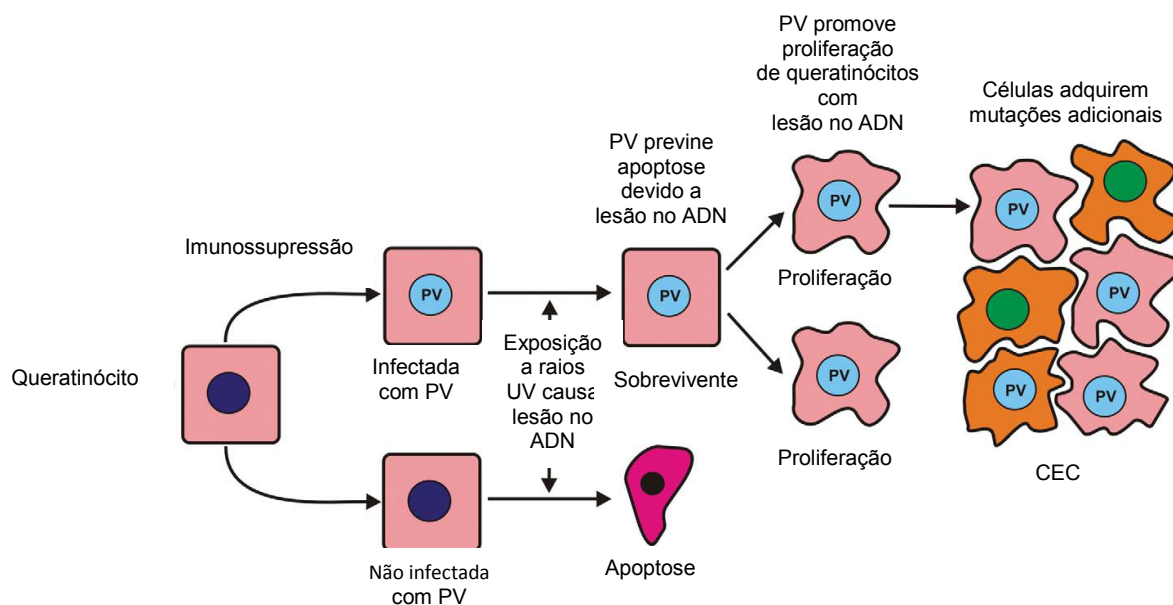


Figura 5 – Representação esquemática de como a ação do papilomavírus pode promover CEC em pele lesada pelo sol (Adaptado de Munday & Kiupel, 2010b).

Existem diversos métodos, com diferentes sensibilidades, que podem ser utilizados para a detecção do PV. A técnica mais usada em laboratórios é a reação de polimerização em cadeia (mais conhecida como PCR). Também a microscopia eletrônica pode ser útil (Scott et al., 2001). A imunohistoquímica é outra forma de diagnóstico de lesões suspeitas de serem causadas por PV em cães, utiliza anticorpos do PV bovino e outros reagentes policlonais anti-PV que fazem reação cruzada com múltiplas espécies, incluindo o cão (Gross et al., 2005).

Histologicamente o papiloma viral diferencia-se do não viral pelo efeito citopático que provoca. O efeito citopático caracteriza-se pela diferenciação da epiderme poder apresentar ortoqueratose ou paraqueratose, por os grânulos de querato-hialina estarem aumentados, por existirem inclusões intranucleares e coilócitos (queratinócitos alterados, localizados no estrato espinhoso, muito volumosos, que apresentam núcleo picnótico e um halo perinuclear), por se verificar a inclinação das papilas para o interior (no papiloma não viral a inclinação é em direção ao exterior) e pela existência de várias células do estrato espinhoso com citoplasma basófilo, o que corresponde à diminuição de tonofilamentos intracitoplasmáticos (Goldschmidt & Hendrick, 2002).

De uma forma geral, em termos histopatológicos, os papilomas têm um eixo central de estroma dérmico que suporta o epitélio proliferante e os capilares da derme estão dilatados e congestionados. Quando há infecção bacteriana secundária vai existir marginalização de neutrófilos e a sua migração para a derme e epiderme (Goldschmidt & Hendrick, 2002).

Nos casos em que é necessário fazer tratamento, por não se verificar a regressão espontânea ou por as lesões diminuírem a qualidade de vida do animal, pode-se recorrer, por exemplo, à excisão cirúrgica por criocirurgia ou eletrocirurgia (Scott et al., 2001). A

injeção intralesional de bleomicina, interferão (INF) ou 5-fluorouracilo (5-FU) (SID, durante cinco dias e a partir daí a cada sete dias durante seis semanas), assim como a administração por via oral de levamisol, tiabendazol e retinoides é benéfica em humanos com papilomas resistentes (Scott et al., 2001). Em cães com papilomas invertidos a terapêutica com retinoides (por exemplo, 0,5 a 1mg/acitretina/kg, PO, SID) demonstrou ter resultados positivos (Scott et al., 2001; Rassnick, 2010). O uso de retinoides também beneficiou um caso de placa pigmentada canina (Medleau & Hnilica, 2009). O recurso à vincristina ou ciclofosfamida em lesões que não regredem espontaneamente pode ser eficaz (Sherding, 2006). Existe relato de um caso em que o uso tópico de imiquimode 0,5%, em intervalos de 24h/48h, foi benéfico em papilomatose cutânea (animal deve usar colar isabelino) (Medleau & Hnilica, 2009).

Uma das formas de prevenção de PV são as vacinas. Estas podem ser vivas ou inativadas (Scott et al., 2001). Estudos atuais tentam criar vacinas recombinantes, profiláticas e terapêuticas, que geram títulos elevados de anticorpos monoclonais ou que estimulam linfócitos T citotóxicos vírus-específicos (Rassnick, 2010). Uma nova vacina recombinante contra PVOC, produzida em Georgetown University Medical Center, pode ser útil em casos refratários. É composta pela proteína L1 da cápside viral (Medleau & Hnilica, 2009).

Alguns casos de papilomatose viral podem não regredir espontaneamente, nem responder ao tratamento, possivelmente devido a deficiências imunológicas dos animais (Scott et al., 2001).

5- DIAGNÓSTICO DE CEC

Existem várias formas de apresentação do CEC. Por essa razão, além da anamnese e exame físico detalhados, torna-se essencial fazer o estudo citológico e/ou histopatológico das lesões para obter um diagnóstico definitivo e preciso (Rodaski & Werner, 2009). A citologia fornece um diagnóstico presuntivo. A biópsia, seguida de exame histopatológico da amostra, é a abordagem de diagnóstico mais apropriada (Scott et al., 2001).

As características citológicas são usadas para distinguir CEC de outras alterações dermatológicas, como inflamação, infecção, hiperplasia ou lesões imunomediadas (Rodaski & Werner, 2009). Citologicamente o CEC caracteriza-se por uma população celular heterogênea que pode variar desde células epiteliais de diversos tamanhos, arredondadas, pouco diferenciadas e com citoplasma basófilo, até células epiteliais não queratinizadas maduras, grandes, angulares com citoplasma abundante, núcleo volumoso e vacuolização perinuclear (Medleau & Hnilica, 2009). No que respeita à biópsia, esta pode ser incisional ou

excisional, deve ser representativa da lesão e deve evitar áreas de ulceração e necrose (Figura 6) (Morris & Dobson, 2002).

De forma geral, é uma neoplasia que infiltra a derme, não tem limites definidos e não é revestida por cápsula fibrosa (Rodaski & Werner, 2009). Quando a neoplasia se apresenta ulcerada há, uma infiltração por neutrófilos na parte superficial do tumor e por plasmócitos e linfócitos na parte mais interna (Goldshmidt & Hendrick, 2002).

A partir do exame histopatológico pode-se classificar o CEC em: bem diferenciado, moderadamente diferenciado, pouco diferenciado, acantolítico, de células fusiformes e verrucoso (Gross et al., 2005).



Figura 6- Biópsia incisional, com recurso a biótomo, de lesão de carcinoma espinocelular cutâneo em cadela de raça Boxer. (Original).

O CEC bem diferenciado é o tipo histológico mais comum em cães. Caracteriza-se por ser erosivo e formar placas que incluem ilhas e trabéculas de células escamosas. Estas placas originam-se na epiderme e estendem-se até à derme. Foram registados alguns CECs que não envolvem a epiderme e que têm origem em folículos pilosos superficiais ou em quistos foliculares. A epiderme subjacente apresenta paraqueratose e crostas. Por vezes, quando a hiperqueratose é marcada, podem desenvolver-se cornos cutâneos. A QA e placas virais podem estar presentes em zonas periféricas de lesões de CEC (Gross et al., 2005). As células basais, poliédricas, não queratinizadas que existem na periferia das lesões tumorais progridem para células queratinizadas, grandes e poligonais no centro das lesões. As células basais poliédricas podem estar dispostas em uma única camada nas neoplasias bem diferenciadas e, em neoplasias pouco diferenciadas, podem apresentar-se em mais do

que uma camada. É visível a acumulação central de queratina laminada, compacta ou pérolas de queratina em número e tamanho variável. Zonas de paraqueratose também podem estar presentes. A queratinização progride através do estrato granuloso, como na epiderme normal ou no infundíbulo folicular. Os centros queratinizados podem sofrer necrose, sendo seguidamente infiltrados por neutrófilos (Gross et al., 2005). As células periféricas basaloides têm um citoplasma escasso e anfofílico, enquanto as células centrais queratinizadas têm citoplasma abundante e eosinófilo. Alguns CECs possuem citoplasma com glicogenização, moderada ou abundante, que se manifesta por citoplasma finamente reticulado. O núcleo das células é grande e vesicular, o nucléolo é único e verificam-se variações no que respeita ao seu tamanho (Gross et al., 2005).

A neoplasia designa-se CEC bowenoide quando os núcleos das células se apresentam alongados dorsoventralmente, inclinados numa mesma direção e os nucléolos são atípicos, multilobulares. Aglomerados de cromatina também podem estar presentes (Gross et al., 2005).

A atividade mitótica em CECs bem ou moderadamente diferenciado vai de moderadamente baixa a moderadamente alta. A fibroplasia do estroma é moderada a abundante e este contém pequenos aglomerados e cordões de células tumorais parcialmente queratinizadas. A presença de células inflamatórias a infiltrar o estroma é comum. Na zona das lesões tumorais ou em zonas adjacentes, podem-se identificar infiltrações focais ou perineurais de pequenos agregados de células neoplásicas (Gross et al., 2005).

Por vezes, pode ser detetada invasão linfática ou vascular pelas células tumorais (Gross et al., 2005). Em CECs mais diferenciados, em áreas de edema intercelular, podem ser identificados desmossomas (Goldshmidt & Hendrick, 2002). É uma variante tumoral em que o exame histopatológico, na maioria das vezes, fornece o diagnóstico definitivo, não sendo necessário recorrer a técnicas de imunohistoquímica (Rodaski & Werner, 2009).

O CEC pouco diferenciado é menos comum e a sua organização estrutural assemelha-se muito à descrita para o CEC bem diferenciado. As estruturas formadas pelo tecido tumoral tendem a ter dimensão mais pequena. Predominam os cordões e ninhos de células epiteliais escamosas. Grandes toalhas de células podem ser visíveis. Neste tipo de CEC a produção de colagénio pelo estroma é menos intensa. A maioria das células possui um citoplasma anfofílico, núcleo hipercromático e nucléolo proeminente, único ou múltiplo (Gross et al., 2005). A atividade mitótica varia de moderada a elevada e as mitoses atípicas são frequentes. As pérolas de queratina não são visíveis, mas células individuais disqueratósicas ou aglomerados de células parcialmente queratinizadas podem estar presentes (Gross et al., 2005).

Os carcinomas anaplásicos, como os que têm origem nas glândulas sebáceas ou perianais, e que apresentem extensa metaplasia escamosa podem ser difíceis de distinguir dos CECs pouco diferenciados. A continuidade multifocal do tecido neoplásico com a epiderme

displásica apoia o diagnóstico de CEC. Outra forma de diferenciar estas neoplasias é a coloração dos tecidos com corantes para lípidos, por exemplo, com óleo vermelho O, que, nos casos de CEC, a coloração é negativa. Técnicas de imunohistoquímica também podem ser úteis nesta diferenciação (Gross et al., 2005).

O CEC acantolítico (adenoide ou pseudoglandular) é pouco frequente. Em humanos existe uma maior incidência em áreas de pele afetadas pelo sol e em pessoas idosas. No entanto, não são as características epidemiológicas associadas a esta variante de CEC ainda não estão bem esclarecidas (Grandi, Monteiro, Fernandes, Salgado & Rocha, 2011). Ao contrário das outras variantes, no CEC acantolítico pode-se diferenciar áreas de acantólise, mas, para fazer o seu diagnóstico, é necessário que estas áreas sejam dominantes na estrutura das lesões neoplásicas. As estruturas pseudoglandulares são formadas por células parcialmente queratinizadas que se descamam para o centro das ilhas e trabéculas epiteliais, devido à perda de junções intercelulares (Gross et al., 2005). As células queratinizadas residuais flutuam nos pseudolúmens ou estão ligadas a uma camada de células periféricas através de finas pontes intercelulares. Áreas de CEC bem diferenciado podem estar presentes nesta variante (Gross et al., 2005). A diferenciação entre CEC acantolítico e neoplasias glandulares (como adenocarcinoma apócrino) nem sempre é fácil. A existência de acantólise ativa, caracterizada por células individuais queratinizadas nos pseudolúmens, e a ausência de secreção apócrina típica ou de acumulações de material proteico, indicam que se trata de um CEC acantolítico. A continuidade da epiderme nesta variante de CEC pode ser difícil de distinguir da diferenciação da porção mais superficial dos ductos de glândulas apócrinas e/ou da continuidade folicular em adenocarcinoma apócrino. A displasia da epiderme adjacente, que nem sempre está presente, é uma importante indicação de CEC. Em casos de dúvida, o recurso a técnicas de imunohistoquímica pode ajudar no diagnóstico definitivo (Gross et al., 2005).

O CEC de células fusiformes é uma variante de CEC pouco diferenciado e é raro em cães. É composto por células fusiformes, poligonais e ricas em citoplasma. O seu citoplasma é pálido ou anfófilico. Na epiderme subjacente pode-se verificar a existência de áreas de transformação maligna, caracterizadas por perda de distinção da membrana basal e pela presença de células fusiformes atípicas que parecem deslocar-se desde estas áreas até à derme. Focos de queratinização parcial podem estar presentes em áreas limitadas, áreas essas que se caracterizam pela presença de células poligonais de citoplasma eosinófilo, núcleo grande e vesicular e nucléolo proeminente. O IM é elevado (Gross et al., 2005). O CEC de células fusiformes deve ser diferenciado de sarcomas de células fusiformes com alto grau de diferenciação e de melanoma amelanótico. Quando existe continuidade com a epiderme displásica e/ou pequenos focos de morfologia epitelial típica, pode ser confirmado o diagnóstico de CEC de células fusiformes. Uma vez mais o diagnóstico definitivo pode requerer técnicas de imunohistoquímica (Gross et al., 2005).

Outra variante de CEC é o CEC verrucoso, tem baixo grau de diferenciação, é raro e apenas foi observado em cães. Apresenta arquitetura exofítica e endofítica com proliferações papilares, trabéculas arredondadas e grandes invaginações tubulares. As trabéculas e as estruturas tubulares invadem zonas da epiderme mais interna e anastomosam. Lesões de grandes dimensões podem ter aparência de túneis ramificados e designam-se por *carcinoma cuniculatum* (Gross et al., 2005). Queratinócitos muito pequenos, poliédricos, com aparência semelhante aos queratinócitos da camada espinhosa da epiderme, e uma camada basal periférica fazem parte da estrutura tumoral. As zonas endofíticas não apresentam pérolas de queratina. As invaginações tubulares possuem queratinócitos descamados, pequenas quantidades de queratina amorfa e algumas células inflamatórias (Gross et al., 2005). As células possuem um núcleo moderadamente aumentado, ovoide e vesicular. O nucléolo é pequeno e pode ser múltiplo, o citoplasma é rosado e a sua quantidade varia de escassa a moderada. A atividade mitótica é baixa, mas em estratos superiores ao estrato basal pode-se observar mitoses e figuras mitóticas atípicas. A apoptose pode estar presente e contribuir para a existência de detritos nos túneis (Gross et al., 2005).

Quando as biópsias são pouco representativas, a variedade exofítica pode ser confundida com papilomas escamosos, papilomas virais e até com hiperplasia epidérmica papilomatosa. No entanto, em lesões de CEC verrucoso, não existe efeito citopático viral e as lesões costumam ser maiores que as lesões papilomatosas. A existência de invasão da membrana basal, a atipia das figuras mitóticas e a atividade mitótica em camadas superiores à de células basais, indica malignidade, logo, confirma o diagnóstico de CEC. Para que se possa fazer um diagnóstico preciso é importante ter uma biópsia representativa que inclua área de derme subjacente às lesões (Gross et al., 2005).

Quando a histopatologia é inconclusiva devem ser aplicadas técnicas de imunohistoquímica. A maioria dos tumores epiteliais, e o CEC não é exceção, são positivos a colorações comerciais de pancitoqueratina, como AE1/AE3. Alguns CECs de células fusiformes podem ser negativos (Gross et al., 2005). Este facto, por vezes, é essencial para o diagnóstico diferencial entre as variantes de CEC de células fusiformes e CEC verrucoso (Scott et al., 2001).

Uma imunocoloração para citoqueratinas de alto peso molecular (CK5/6) pode ser usada como um marcador sensível de CECs de todos os tipos (Gross et al., 2005). No caso de lesões de características bowenoides ou se estiverem presentes coilócitos deve-se proceder à imunomarcação para o PV (Gross et al., 2005). Também a imunomarcação para recetores de androgénios e estrogénios pode ser usada em tumores de glândulas sebáceas e perianais, o que pode ser útil no diagnóstico diferencial de CEC pouco diferenciado. Todavia, a sua eficácia ainda não está totalmente comprovada (Gross et al., 2005). O CEC acantolítico pode ser diferenciado de adenocarcinomas quando as colorações para CK8,

CK13 ou CAM5.2 (CK7/8) são negativas. Para diferenciar o CEC de células fusiformes de melanomas amelanótico, tumores malignos da bainha de nervos periféricos, leiomiossarcomas e sarcomas em geral deve-se recorrer à imunomarcação para a vimentina, S100, fator de transcrição associado à microftalmia, isoforma de melanina (MITF-M) e actina de músculo liso (Gross et al., 2005).

Vários métodos de análise foram usados na tentativa de traduzir as transformações que ocorrem nas células tumorais em representações objetivas e numéricas. Tais métodos incluíram a análise colorimétrica de cultura de células neoplásicas, a citometria automática, a análise de variação morfométrica nuclear e a análise de imagem de coloração da lectina tumoral (Júnior, Filho, Patu, Machado, Beltrão & Carvalho Jr, 2006). Mudanças qualitativas e quantitativas em glicoconjugados das membranas celulares são comuns durante o desenvolvimento e progressão de vários processos neoplásicos. Nas células neoplásicas, o aumento da expressão de hidratos de carbono nas superfícies celulares foi demonstrado através de técnicas de histoquímica usando lectinas, as quais podem também ser assim utilizadas no diagnóstico diferencial dos vários tipos de neoplasias, como por exemplo, entre CEC e queratoacantoma (Júnior et al., 2006).

No âmbito da medicina humana, com base na premissa de que diferentes tipos tecidulares têm capacidades distintas para acumular protoporfirina IX (PpIX), Kleinpenning, Wolberink, Smits, Blokk, Kerkhof, Erp e Gerritsen (2010) realizaram uma investigação sobre a utilidade do diagnóstico baseado na porfirina, que é induzida pelo ácido aminolevulínico (ALA), na discriminação entre os diferentes tipos de lesões e seus estádios. A aplicação tópica de ALA, ou do seu éster metilo, o metil aminolevulinato (MAL), leva à formação de PpIX na pele. A PpIX acumula-se preferencialmente na pele lesada, pelo que é usada para tratar várias alterações cutâneas. Além disso, quando se irradia com luz azul (comprimento de onda de 408nm) áreas que foram tratadas com ALA ou MAL, estas exibem uma fluorescência vermelha visível, que ocorre por excitação da PpIX. Os investigadores concluíram que este tipo de diagnóstico não mostrou ser útil nem na discriminação entre lesões de CEC e QA, nem na diferenciação dos diferentes estádios de neoplasias intraepidérmicas queratinocíticas. Contudo, parece ter um benefício potencial na identificação de lesões pré-malignas com tendência a progredirem para CEC, na distinção entre as lesões cutâneas escamosas que já estão a progredir para formas invasivas de neoplasia e no diagnóstico de outros tipos de processos patológicos malignos que envolvam as células escamosas.

Considerando que o CEC se pode disseminar pela via linfática, é aconselhável realizar punção aspirativa dos linfonodos regionais comprometidos. Radiografias torácicas em três planos e, dependendo da necessidade, ecografias abdominais também são úteis para que possa ser feita a avaliação minuciosa do paciente, e assim escolher o protocolo terapêutico mais adequado (Rodaski & Werner, 2009; Northrup & Gieger, 2010).

6- TRATAMENTO DE CEC

Existem várias opções para a abordagem terapêutica de pacientes com CEC. Estas opções incluem, por exemplo, a excisão cirúrgica, a criocirurgia, a eletrocirurgia, a hipertermia e/ou a radioterapia (Scott et al., 2001). O tratamento adequado vai depender do estadio e localização das lesões. Por exemplo, lesões solitárias devem ser abordadas com cirurgia. Em lesões múltiplas pré-neoplásicas o etretinato demonstrou ter resultados benéficos. Já no caso de lesões superficiais e não invasivas a aplicação de 5-FU ou de carmustina tópica em pomada demonstrou ser eficaz (apesar de poder ocorrer alguma inflamação local após a aplicação). A criocirurgia, nestas situações, também demonstrou ter bons resultados (Nesbitt, 1998). Casos em que o tumor não pode ser extirpado cirurgicamente, mas que ainda não metastizou, a radioterapia é uma boa opção, sendo o método de teleterapia de feixe externo uma possível escolha. Cisplatina endovenosa ou cisplatina em implantes intralesionais com matriz de colagénio de bovino também podem ser utilizadas. Além do tratamento, a educação dos proprietários sobre os cuidados a ter com a exposição solar dos seus cães é essencial para a prevenção de novas lesões de CEC (Scott et al., 2001).

6.1- Cirurgia

A ampla excisão cirúrgica é o tratamento de eleição quando as lesões são detetadas precocemente. O prognóstico é favorável e normalmente não se verificam recidivas, apesar de haver a possibilidade de se desenvolverem lesões em outros locais da pele (Scott et al., 2001). Recomenda-se a excisão com margem de 1 a 3cm para o controlo de eventuais recidivas da neoplasia. A excisão cirúrgica agressiva em cães pode obter um intervalo livre de doença de 4 anos (Rodaski & Werner, 2009). No entanto, quando o tumor é marginalmente extirpado o prognóstico é reservado e a taxa de recorrência é elevada; aproximadamente 50% dos pacientes morre ou é eutanasiado em menos de um ano (Scott et al., 2001). Nestes casos, deve-se optar por terapêuticas adjuvantes, como radioterapia, quimioterapia tópica ou sistémica e terapia fotodinâmica (Rodaski & Werner, 2009). A combinação da cirurgia e radioterapia para CEC infiltrativo tem mostrado resultados promissores (Vail & Withrow, 2001).

6.2- Criocirurgia

A criocirurgia consiste na aplicação de substâncias criogénicas, principalmente o nitrogénio líquido, nas células tumorais, levando à diminuição da sua temperatura até que se atinja o congelamento. Durante o congelamento formam-se cristais intracelulares e extracelulares. Os cristais extracelulares alteram o gradiente osmótico entre o meio intracelular e o extracelular, o que provoca a saída de água do interior da célula para o exterior. Desta forma, no interior da célula fica uma quantidade tóxica de eletrólitos que alteram o pH das

macromoléculas e da membrana celular, provocando um dano irreversível na célula (Queiroz & Matera, 2003). De forma indireta, a lesão criogénica provoca estase vascular e anoxia tecidual, resultando em necrose e isquémia. Duas horas após o congelamento pode-se observar edema, danos focais nos capilares, hemorragia e formação de microtrombos. Oito horas depois verifica-se necrose focal ou segmentar dos vasos (Queiroz & Matera, 2003).

Os queratinócitos apresentam resistência considerável à congelação e esta ocorre apenas a temperaturas que rondam os -20°C e os -30°C . Quando se utiliza a criocirurgia para tratar lesões de CEC, optam-se por temperaturas em torno dos -50°C . O tempo de congelamento aconselhado depende do autor. No Reino Unido preconiza-se 30 segundos de congelamento. Já nos Estados Unidos, o tempo recomendado é entre 30 e 60 segundos. As células cancerígenas são resistentes ao congelamento, por isso, utiliza-se protocolos cíclicos de congelamento-descongelamento repetidos (Queiroz & Matera, 2003). Segundo vários autores, erosões, úlceras e crostas são os tipos lesionais com maior indicação para serem submetidos a criocirurgia (Lucas & Larsson, 2006).

De entre as complicações mais comuns da criocirurgia destacam-se as hemorragias, os edemas e a dor, durante ou após o tratamento. Também se pode verificar retração tecidual, alopecia e hipopigmentação. As lesões pós-cirúrgicas cicatrizam por segunda intenção (de 4 a 14 semanas), o que leva à formação de tecido de granulação e de crosta. Nesta fase a aplicação de pomada com antibiótico e, eventualmente, o desbridamento, podem ser aconselhados (Queiroz & Matera, 2003).

As vantagens desta técnica são: a rapidez, a fácil aplicação, o baixo custo e a segurança (a criocirurgia reduz o tempo necessário da anestesia geral, podendo mesmo ser efetuada sem o recurso à anestesia) (Queiroz & Matera, 2003). Pode ser utilizada em lesões localizadas, áreas em que a pele não é suficiente para aproximar os bordos pós-excisão, áreas anatómicas em que é difícil o acesso pela cirurgia convencional ou em lesões grandes em que não é possível o encerramento com sutura (Queiroz & Matera, 2003).

Poucos são os autores que indicam este procedimento para lesões amplas. Alguns referem o seu uso em lesões com até 1cm, no máximo. Outros mencionam 2,5cm, outros ainda 7cm. Contudo, no estudo realizado em gatos por Lucas e Larsson (2006), estes investigadores aplicaram a criocirurgia com sucesso em lesões até 9cm. Neste estudo em gatos, mesmo nos casos em que o tratamento não levou à remissão total das lesões, houve um prolongamento do tempo médio de vida.

A criocirurgia nem sempre tem resultados satisfatórios para o controlo de CEC. Num estudo em 15 gatos tratados com criocirurgia para CEC nasal e auricular, apenas quatro permaneceram livres de doença por mais de 6 meses (Rodaski & Werner, 2009). Em cães, foi referida uma taxa de sucesso de 75% em pacientes com CEC tratados com criocirurgia (Lucas & Larsson, 2006).

6.3- Radioterapia

A radioterapia consiste no uso de radiação ionizante para tratamento de pacientes com tumores malignos, locais ou regionais. Ocasionalmente pode ser usada em algumas condições benignas. Pode ser aplicada como técnica única ou em combinação com outras modalidades terapêuticas. A radiação ionizante causa ionização e excitação de átomos e moléculas nas células, resultando numa variedade de iões e radicais livres instáveis que vão causar lesão celular (Théon, 2010). Em doses clínicas, a lesão induzida pela radiação resulta em morte celular ou suspensão do crescimento celular (Théon, 2010). As células que se encontram em fase S e G1 do ciclo celular são mais radioresistentes do que as células que se encontram em fase M e G2. No intervalo entre radiações as células que se encontram em fase S iniciam o ciclo celular e dividem-se (Cunha, Carvalho, Canary, Reisner, Corgozinho, Pereira, Holguin, Souza & Ferreira, 2010). Considera-se que um tumor é radiocurável quando pode ser erradicado por uma dose de radiação que é bem tolerada por o tecido normal circundante. Grandes massas neoplásicas são radioresistentes (Théon, 2010).

Existem três modalidades distintas de radioterapia. A teleterapia, que implica a propagação da radiação pelo espaço, ou seja, a deslocação da radiação desde uma fonte externa até ao paciente, essa distância normalmente varia entre 80 e 100cm. A fonte de radiação externa é chamada de unidade de megavoltagem e pode ser uma unidade de Cobalto-60 (^{60}Co), que emite radiação gama altamente energética, ou um acelerador linear, que emite raios-x e eletrões também altamente energéticos. Esta modalidade requer anestesia geral de curta duração (Théon, 2010). A aplicação da radiação pode ser feita de forma fracionada, em doses baixas administradas ao longo de várias semanas, o que diminui os possíveis efeitos secundários nos tecidos normais circundantes e permite o aumento da radiação total administrada. Este protocolo designa-se por radioterapia hipofracionada. O protocolo recomendado consiste no uso de doses de 3Gray (Gy), ou menos, durante cinco dias por semana (Théon, 2010). O tratamento hipofracionado foi testado com vários protocolos em felinos com CEC. Os resultados obtidos com o hipofracionamento foram muito variáveis (Cunha et al., 2010; Cunha, Pinheiro, Carvalho, Canary, Reissner, Sousa, Corgozinho, Moura & Ferreira, 2009). Outra modalidade de radioterapia é a braquiterapia, em que uma fonte radioativa é aplicada diretamente na área que deve ser tratada. Este contacto entre a fonte e a lesão permite diminuir a dose de radiação utilizada, possibilitando uma dose total cumulativa maior. Quando uma fonte reativa, normalmente o irídio 192 (^{192}Ir), é aplicada diretamente no interior da lesão designa-se braquiterapia intralesional ou curieterapia. A aplicação desta modalidade exige recurso a anestesia geral. A aplicação da fonte radioativa, normalmente o estrôncio 90 (^{90}Sr), na superfície tumoral é outra forma de braquiterapia e designa-se por plesioterapia. Esta última técnica é normalmente usada em lesões superficiais de pele como, por exemplo, CEC com menos de 2cm de espessura e lesões

pequenas que não foram completamente extraídas com a cirurgia. A dose recomendada é de 120 a 150 Gy numa única sessão (Théon, 2010). Outra modalidade possível é a radioterapia sistêmica, vários protocolos também têm sido testados para esta modalidade (Théon, 2010).

No que respeita ao CEC do cão, a radioterapia tem grande êxito nas lesões localizadas na cavidade bucal, ao contrário do que acontece com as lesões nasais. Pode ser aplicada como tratamento adjuvante no pré-operatório de CEC avançado (Théon, 2010).

Existem poucos relatos sobre a resposta de cães com CEC cutâneo à radioterapia. Num grupo de 8 cães submetidos à radioterapia (35 a 50 Gy), nenhum apresentou a remissão completa, constatando-se a progressão tumoral 2,9 meses após a irradiação (Rodaski & Werner, 2009). Rodaski e Werner (2009) consideram que a radioterapia deve ser utilizada em CEC cutâneo como terapia adjuvante, para casos em que a localização e/ou extensão das lesões não permita a sua ressecção com margens limpas. Referem ainda que tumores com menos de 2cm de diâmetro e com baixa proliferação celular são mais eficazmente controlados com esta técnica.

A radioterapia associada ao tratamento quimioterápico de cisplatina pode ser adequado para tratar pacientes com CECs anaplásicos ou sem resposta a outros tratamentos (Fernandes, Andrade, Biazzone, Luvizorro, Santos & Correa, 2003).

Fernandes et al. (2003) relatam o caso de um cão com CEC na zona do carpo em que, pela localização de difícil extirpação cirúrgica, optaram pela abordagem radioterápica. Iniciaram o tratamento de teleterapia com ^{60}Co durante quatro sessões, usando uma dose de 500 centigray (cGy) a 0,5cm de profundidade em cada sessão. As duas primeiras sessões foram em dois dias seguidos e as outras duas sete dias depois. Observaram eritema e descamação três semanas após a radiação. Como se verificou recorrência das lesões neoplásicas, os clínicos decidiram seguir tratamento com aplicação de braquiterapia com folhas de ouro (^{198}Au) (com forma de disco de 2,76cm de raio) que cobriam toda a área tumoral. O molde forneceu uma dose inicial de 60cGy/hora no centro e 17,5 cGy/hora na periferia. Não foi necessário realizar anestesia para proceder à aplicação do molde. Alopecia e epiderme adelgada foram registadas 4 semanas após a terapia. Em 30 dias houve uma reação de cicatrização da pele, sem nenhuma alteração física evidente. Concluído o tratamento de braquiterapia o animal foi considerado clinicamente livre de doença. O material radioativo em forma de anéis concêntricos demonstrou uma grande uniformidade na distribuição da dose, melhor do que a verificada com os implantes. Demonstrou também ser uma técnica eficaz e com menos riscos para os técnicos que com ela trabalham.

Os efeitos secundários da radioterapia incluem eritema, descamação, alopecia e, mais raramente, ulceração. Como complicações irreversíveis pode-se verificar atrofia da pele, fibrose subcutânea e algumas vezes pode existir necrose de tecidos moles. O grande

problema associado à radioterapia é o seu custo e a falta destes equipamentos em muitos países (Théon, 2010).

A administração intratumoral de carboplatina, a terapia fotodinâmica e a crioterapia, usadas em lesões superficiais, têm menor tempo de remissão que o mesmo tipo de lesões tratadas com radioterapia (Northrup & Gieger, 2010).

6.4- Terapia Fotodinâmica

A terapia fotodinâmica consiste na administração ao paciente de uma substância que se ativa pela luz, o fotossensibilizador, e na posterior irradiação do tumor com luz visível, não térmica. Devido ao seu mecanismo de ação, este procedimento é uma forma altamente seletiva de terapia tumoral quando comparado com a radioterapia ou quimioterapia (Lucroy, 2003). O comprimento da luz visível aplicado vai corresponder ao pico de absorção da substância fotossensibilizadora. A maioria destas substâncias são ativadas pela luz vermelha visível de comprimento de onda de 630-675nm, que penetra em 0,5cm de profundidade da pele. Comprimentos de onda maiores penetram mais profundamente nos tecidos (Lucroy, 2003). A substância fotossensibilizadora, normalmente administrada com uma injeção endovenosa, embora também possa ser por via oral, tópica ou intravesical, vai absorver um fóton e torna-se ativa num estado excitado de singlete ou tripleto. Quando excitada pode reagir com o oxigênio ou com alguma molécula vizinha, causando dano oxidativo. Esta técnica pode levar à morte celular direta, mas, na maioria das vezes, a destruição tumoral ocorre como resultado do colapso vascular, trombose e isquemia, que são induzidas. A principal limitação desta técnica é o custo do equipamento (Lucroy, 2003). A terapia fotodinâmica demonstrou ter melhores resultados em tumores pequenos, preferencialmente com menos de 3cm de diâmetro e não metastizáveis, pois é uma técnica que não tem ação sistêmica. No entanto, são necessários mais estudos clínicos sobre o uso desta terapêutica (McCaw & Bryan, 2010).

Importante referir que a pigmentação e o volume vascular variam de tumor para tumor. Estes fatores afetam a penetração da luz usada para ativar as substâncias fotossensibilizadoras, assim como a sua emissão fluorescente (Dougherty, Thoma, Boyle & Weishaupt, 1981).

Animais portadores de carcinomas com menos de 2cm de diâmetro e minimamente invasivos, como lesões nasais e auriculares, que foram submetidos a terapia fotodinâmica tiveram um intervalo livre de doença entre 3 e 18 meses. Todavia, muitos animais apresentaram reações secundárias à terapia, que se manifestaram por edema facial, espirros, alopecia, infecção local, fotossensibilização e emese (Rodaski & Werner, 2009). Em estadios iniciais do tumor ocorre remissão de 75% a 100% das lesões. No entanto, em estadios mais avançados essa percentagem diminui para menos de 30% (Vail & Withrow, 2001).

Em cães, esta modalidade provou ser benéfica no CEC oral (com resultados equiparáveis aos da extirpação cirúrgica, mas sem comprometimento estético) e em lesões de QA (a substância fotossensibilizadora usada é o ALA) prevenindo desta forma a sua progressão para CEC cutâneo (Lucroy, 2003; McCaw & Bryan, 2010). Takahashi, Nakajima, Sakata, Yamamoto e Iizuka (2005) realizaram um estudo comparativo em ratos entre o uso de ALA e uma nova substância fotossensibilizadora comercial, por eles desenvolvida, no tratamento de QA, CEC e outras doenças de pele. A nova substância desenvolvida por estes investigadores foi o sal sódico de 13,17-bis(1-carboxipropionil)carbamoil-etil-8-etenil-2-hidroxi-3-hidroxiiminoetilideno-2,7,12,18 tetrametilporfirina (ATX-S10(Na)). A sua aplicação é feita por injeção endovenosa ou aplicação tópica. É eliminada pela urina em 24-48 horas e a sua absorção dá-se em luz com comprimentos de onda de 670nm. Neste estudo, a terapia fotodinâmica com ATX-S10(Na) demonstrou ter uma ação mais potente do que com ALA. Isto pode dever-se ao facto de ATX-S10(Na) induzir formas de singlete de oxigénio mais potentes do que as induzidas por ALA e penetrar mais profundamente na pele (o comprimento de onda que absorve é de 670nm, enquanto que para ALA é de 630nm). Esta nova substância fotossensibilizadora pode ser de grande utilidade no futuro.

6.5- Quimioterapia

De forma geral, a quimioterapia com bleomicina, vincristina, hidroxiureia, cisplatina, 5-FU, benzaldeído, tioprolina e actinomicina D foi ineficaz no tratamento de lesões de CEC (Scott et al., 2001). Vail e Withrow (2001) relatam ainda o uso de mitoxantrona e doxorrubicina/ciclofosfamida também com resultados pouco satisfatórios em pacientes com CEC. Por esse motivo, é aconselhável que a quimioterapia seja usada, não como terapêutica única, mas sim como terapêutica adjuvante de cirurgia e/ou radioterapia (Rodaski & Werner, 2009). A quimioterapia com cisplatina é a terapia de eleição quando estão presentes metástases pulmonares (Nesbitt, 1998).

O 5-FU é um quimioterápico antineoplásico do grupo dos antimetabólitos que provoca inibição enzimática, interferindo na síntese de ADN e ARN. Pode ser usado por via parenteral, tópica ou intratumoral. É um composto com baixo custo. No entanto, pode provocar toxicidade neurológica em alguns cães (Ferreira, Oliveira, Gomes, Fernandes, Cardoso, Garcez, Faraon & Oliveira, 2009).

Ferreira et al. (2009) relataram dois casos de cães com lesões de CEC cutâneo na zona do abdómen. Com o objetivo primordial de diminuir as lesões, para que posteriormente se pudesse realizar ressecção cirúrgica total, o primeiro cão foi tratado com 5-FU tópico em pomada, BID, durante 40 dias. Após esse tempo observaram diminuição de 20% na dimensão das lesões principais e de 80% nas menores. Contudo, verificaram irritação na pele ao redor do tumor, sendo por isso suspensa a aplicação de 5-FU. Procederam à cirurgia das lesões remanescentes. No segundo animal, optaram por administrações

semanais de $150\text{mg}/\text{m}^2$ de 5-FU endovenoso durante cinco semanas. Após a primeira aplicação o prurido que o animal apresentava diminuiu e, ao fim das cinco semanas, registaram diminuição de 20% na dimensão dos nódulos maiores e de 60% nos menores. Alguns dos nódulos menores tiveram mesmo remissão completa. Seguidamente realizaram a cirurgia de extirpação das lesões remanescentes. Este estudo veio reforçar a ideia de que o 5-FU é um quimioterápico que pode ser usado como adjuvante da cirurgia em casos de CEC. É um procedimento seguro que deve ser considerado em casos de tumores de grandes dimensões, tumores que se encontrem disseminados e até na prevenção de recidivas (Ferreira et al., 2009).

Outra forma de quimioterapia é a modalidade intralesional com 5-FU ou cisplatina (pode ser associada à hipertermia). Esta modalidade promove a remissão de lesões tumorais, especialmente em animais com CECs secundários a lesões actínicas. Os implantes são constituídos por uma matriz proteica, um agente vasoativo (epinefrina) e um agente antineoplásico, cisplatina ou 5-FU. São colocados de forma intralesional (Rodaski & Werner, 2009). A matriz biodegradável dos implantes é o gel de colagénio de bovino que tem de ser tamponado, purificado, estéril e não pirogénico. Este gel vai atuar como repositório mecânico dos quimioterápicos que se difundem nos tecidos. Esta forma de libertação do quimioterápico permite atingir um coeficiente de concentração tumor-plasma maior e durante um período de tempo mais prolongado que na quimioterapia sistémica ou mesmo na administração intralesional do quimioterápico livre. A epinefrina causa vasoconstrição, o que permite a retenção do agente antineoplásico na massa tumoral (Kitchell, Orenberg, Brown, Hutson, Ray, Woods & Luck, 1995). O uso destes implantes, num período mínimo de 2 a 3 semanas, produz a regressão parcial ou total do tumor (Goldschmidt & Hendrick, 2002). Um grupo de 11 cães com CEC associado a lesões actínicas foi tratado com implantes terapêuticos de 5-FU e cisplatina. Os implantes foram bem tolerados pelos animais, as reações cutâneas restringiram-se aos locais de aplicação do implante, e 50% dos animais obtiveram resolução completa das lesões (Rodaski & Werner, 2009). Kitchell et al. (1995) testaram implantes quimioterápicos intralesionais em 13 cães com CEC cutâneo secundário a lesões actínicas. Três desses cães tinham sido anteriormente submetidos a tratamento tópico com 5-FU sem sucesso e os restantes 10 tinham sido submetidos a cirurgia, mas as lesões recidivaram. Iniciaram o tratamento com implantes de 5-FU, o tratamento durou em média 5 semanas. Verificaram que 5 dos cães atingiram remissão total após receberem uma média cumulativa entre $102,8$ e $202,7\text{mg}$ 5-FU/ cm^2 de área tumoral. Os restantes 8 cães tiveram apenas remissão parcial, mas a dose média que receberam foi entre $43,4$ e $45,9\text{mg}$ 5-FU/ cm^2 . A cinco dos cães com remissão parcial foi-lhes aplicado seguidamente um implante com cisplatina. Dois desses cinco cães atingiram remissão total com doses cumulativas de $1,1$ e $0,4\text{mg}/\text{cm}^2$. Os restantes três animais, que receberam doses de cisplatina de $0,2$, $0,4$ e $0,2\text{mg}/\text{cm}^2$, não atingiram remissão completa das lesões. Estes três

foram submetidos a excisão cirúrgica das lesões remanescentes. Neste estudo a média de sobrevida dos animais foi de 153 semanas. As doses de antineoplásicos administrados foram as máximas fisicamente possíveis reter na área tumoral. Os investigadores constataram que lesões que obtiveram remissão completa receberam, em média, doses cumulativas de 5-FU e cisplatina 2,4 a 2,6 vezes maiores, por centímetro quadrado, do que lesões que apenas obtiveram remissão parcial. Os efeitos secundários são muito limitados ou mesmo ausentes, pois apenas uma pequena fração do fármaco é absorvida pela circulação sistémica. A escolha de 5-FU e cisplatina deve-se à sua eficácia no tratamento do CEC cutâneo (Kitchell et al., 1995).

Em cães, a dose sistémica preconizada de 5-FU é de 150mg/m² e de cisplatina de 50-70 mg/m² de área corporal, as doses são muito mais elevadas do que as usadas em implantes intratumorais. Teoricamente, é possível atingir uma concentração de quimioterápico 10000 vezes superior com implantes de gel intralesionais do que com a administração sistémica, pois os efeitos secundários da droga estão minimizados e a distribuição no tecido alvo é muito melhor (Kitchell et al., 1995).

6.6- Eletroquimioterapia

Outra forma descrita para tratar cães com CEC cutâneo é a eletroquimioterapia. Esta técnica baseia-se no princípio da eletropermeabilização, que é a utilização, controlada, de descargas elétricas para induzir a reorganização elétrica da membrana plasmática da célula. A eletroquimioterapia combina a administração local ou sistémica de fármacos quimioterápicos, como bleomicina ou cisplatina (têm baixa penetração na membrana plasmática da célula devido às suas propriedades químicas ou à falta de mecanismos de transporte que as façam atravessar a membrana), com a aplicação direta de descargas elétricas no tumor (Cemazar, Tamzali, Sersa, Tozon, Mir, Miklavcic, Lowe & Teissie, 2008). Com a descarga elétrica nas células há um aumento da citotoxicidade da bleomicina em 1000 vezes e da cisplatina em 70 vezes. A bleomicina pode ser administrada por via sistémica ou intratumoral, enquanto a cisplatina apenas pode ser administrada por via intratumoral (Cemazar et al., 2008). A bleomicina é um antibiótico antitumoral que quebra a cadeia dupla de ADN e provoca libertação de radicais livres. Os radicais livres libertados vão provocar dano oxidativo nas células (Reed, Fulmer, Buckholz, Zhang, Cutrera, Shiomitsu & Li, 2010). Devido às suas propriedades, a bleomicina pode ser reservada para o tratamento de pacientes com um grande número de nódulos ou nódulos de grandes dimensões, enquanto a cisplatina pode ser aplicada em casos com poucos nódulos ou nódulos de pequenas dimensões (Mir, 2006).

Existem duas teorias sobre o mecanismo pelo qual funciona esta técnica. A teoria mais aceite é que a descarga elétrica gera poros hidrofílicos responsáveis pelo transporte das moléculas através da membrana. Contudo, estes poros nunca foram observados. A outra

teoria supõe, que o que acontece na realidade, é a desorganização da membrana lipídica das células, devido a forças eletrocompressivas criadas pelo aumento da voltagem transmembranar. Assim, a água pode entrar na célula através dos defeitos criados na estrutura membranar. A hidratação da membrana leva ao aumento do coeficiente de permeabilidade para moléculas hidrofílicas, como a bleomicina e a cisplatina (Mir, 2006). Estudos demonstram que a aplicação de descargas elétricas induz uma redução transitória e reversível no fluxo sanguíneo, o que provoca uma retenção intratumoral do quimioterápico por várias horas (Cemazar et al., 2008).

Após a descarga elétrica, os defeitos que se criam na célula vão cicatrizar espontaneamente (Cemazar et al., 2008). Diversos estudos referem o uso de vários protocolos diferentes. Contudo, as medidas da descarga elétrica aplicada são constantes em quase todos esses protocolos. É unânime o uso de 1000V/cm durante 100µs com frequência de 1HZ. A administração dos fármacos deve ocorrer breves minutos antes da descarga elétrica ser aplicada. Em medicina veterinária, podem ser usados dois tipos de eletrodos diferentes, as agulhas, que permitem um campo elétrico em profundidade e heterogêneo, e os pratos, que se situam na superfície do tumor e são mais uniformes na sua atuação (Cemazar et al., 2008).

A eletroquimioterapia pode ser usada como terapêutica isolada ou adjuvante em casos de nódulos cutâneos ou subcutâneos, solitários ou múltiplos. Como os resultados da eletroquimioterapia são comparáveis com os de outras abordagens terapêuticas, o facto de o seu custo ser baixo e ser uma técnica relativamente fácil, torna-a uma opção no tratamento de neoplasias em cães, nomeadamente em casos de CEC cutâneo (Cemazar et al., 2008). Rangel, Nishiya, Oliveira, Souza, Cogliatu e Dagli (2009) relatam o caso de uma cadela de raça Pit Bull que foi diagnosticada com CEC cutâneo 11 meses antes de ser levada à consulta de referência. No momento da consulta as lesões eram ulceradas, nodulares e algumas tinham forma de placas. Dada a extensão das lesões, os clínicos propuseram a realização de cirurgia com eletrocautério para extração da parte exofítica dos nódulos em associação com um protocolo de três aplicações de eletroquimioterapia. O protocolo de eletroquimioterapia consistiu na administração de bleomicina na dose de 15000UI/m² endovenosa, seguida de 8 ciclos de descarga elétrica de 100µs, 1HZ e com amplitude de 1079V. As descargas elétricas foram aplicadas na base das formações neoplásicas e numa área de 3cm à volta das lesões. Ao fim da segunda sessão de eletroquimioterapia já era notável uma melhoria considerável. O resultado final do protocolo aplicado foi a remissão completa das lesões e a cura do animal.

Outro grupo de investigadores, Spugnini, Baldi, Mellone, Feroce, Avino, Bonetto, Vincenzi, Citro e Baldi (2007), aplicou duas sessões de eletroquimioterapia em 127 animais. Verificaram que, após a primeira sessão, houve uma resposta inflamatória por neutrófilos, linfócitos e plasmócitos. Constataram também uma extensa necrose da área tumoral. Duas

semanas depois, após a aplicação da segunda sessão de eletroquimioterapia, houve uma diminuição drástica no número células tumorais. As células remanescentes encontravam-se em apoptose e a resposta inflamatória deixou de existir. A massa remanescente era constituída por tecido cicatricial. Comprovaram que os altos níveis de necrose e de apoptose, verificados após o tratamento, estavam diretamente relacionados com o aumento do tempo de sobrevivência dos animais. Este facto reforça a ideia que é a destruição do tumor causada pela eletroquimioterapia a responsável pela sobrevivência dos pacientes. Estes investigadores levantaram a hipótese de que a apoptose não é apenas consequência da eletroquimioterapia, mas também se deve, em parte, à inflamação celular mediada, que depende da presença de população mista de linfócitos T e B.

Como existe um aumento dos níveis de antigénios em animais submetidos a eletroquimioterapia, a imunidade sistémica pode ser induzida e regulada por aplicação adicional de moduladores da resposta biológica, por exemplo, interleucinas (IL) 2 e 12, fator estimulador de colónias de granulócitos e macrófagos e FNT- α . Esta variante designa-se eletroquimio geneticoterapia (Reed et al., 2010). A IL-12 tem um efeito antitumoral em várias neoplasias por ação tóxica direta nas células tumorais e pela atividade antiangiogénica na neovascularização tumoral. A IL-12 tem também um papel na imunidade adaptativa, porque aumenta a resposta dos linfócitos T auxiliares e dos linfócitos T citotóxicos (Reed et al., 2010). Estudos relatam o sucesso desta técnica. No entanto, não é possível afirmar que os animais não tivessem sofrido também remissão completa das lesões sem uso da IL-12, mas apenas com eletroquimioterapia (Reed et al., 2010).

6.7- Anti-inflamatórios

A cicloxigenase (COX) tem duas isoenzimas, a COX-1 e a COX-2, que catalisam a etapa inicial da síntese de PGs a partir do ácido araquidónico. A COX-1 é expressa constitutivamente no organismo e está envolvida na homeostase, enquanto a COX-2 é uma isoforma induzida que se encontra primariamente em locais de inflamação, sendo a sua principal função a de produção de prostaglandina E_2 (PGE_2). Sinais inflamatórios, mitogénese e carcinogénese podem induzir COX-2 (Bardagí, Fondevila & Ferrer, 2012). Também foi reportada a existência de COX-3, mas pensa-se ser uma variante silenciosa de COX-1 (Teske, 2010).

O potencial carcinogénico de COX-2/ PGE_2 deve-se à sua capacidade de induzir proliferação celular, evasão à apoptose, insensibilidade a sinais inibidores de crescimento, promoção da angiogénese, invasão tecidular, metástases e evasão à resposta imune antitumoral. A expressão de COX-2 foi demonstrada em cães com CEC cutâneo, mas não em amostras de pele saudável (Bardagí et al., 2012). Ras-MAPK e PI3K/AKT são importantes sinalizadores da proliferação celular. Está demonstrado que quando a ativação de COX-2/ PGE_2 é anormal, a estimulação destes estádios de sinalização é atípica. A superexpressão de COX-

2 também demonstrou provocar superregulação do recetor FNT- β tipo II. FNT- β bloqueia a progressão celular na fase G1 do ciclo celular. COX-2 também bloqueia o processo normal de diferenciação ao ativar E-catenina (estadio WNT), escapando, também desta forma, à influência de fatores de inibição de crescimento (Teske, 2010). Níveis elevados de PGE₂ provocam supressão da vigilância imunitária e prejudicam a morte de células malignas (Almeida et al., 2001). Mediadores da inflamação como IL-17, IL-1 β , FNT- α e fator ativador de plaquetas estimulam a produção de COX-2 através dos queratinócitos e de outras células. IL-1 β e FNT- α também podem induzir a expressão de COX-2 em células cancerígenas. O anteriormente exposto pode ajudar a explicar a expressão de COX-2 em CEC cutâneo e dermatoses inflamatórias no cão (Bardagi et al., 2012).

Num estudo com uma amostra de 40 cães com CECs (9 dos quais apresentavam CEC cutâneo), 100% dos casos, quando avaliados por técnicas de imunohistoquímica, expressaram positivamente a presença de COX-2. O mesmo não ocorreu quando foram analisadas amostras de pele sã (Teske, 2010). Também Almeida et al. (2001) verificaram que, ao contrário do que acontecia em pele normal, 100% dos casos analisados com CEC apresentaram imunoreatividade para COX-2 (detetada com anticorpo COX-2 anti-ovino com a técnica de *western blotting*). A extensão e intensidade da expressão de COX-2 variou entre os tumores e não observaram nenhuma correlação entre o local, grau e/ou intensidade da expressão de COX-2 e o grau de diferenciação histológica do tumor. COX-2 foi predominantemente encontrada no citoplasma dos queratinócitos, concentrando-se em redor da membrana nuclear. A maioria dos queratinócitos neoplásicos demonstrou fraca positividade para COX-1 (detetado com anticorpo COX-1 anti-ovino com a técnica de *western blotting*) (Almeida et al., 2001).

Investigações em ratos e em humanos, após a exposição à radiação UV, demonstraram a expressão positiva de COX-2 em queratinócitos da camada basal e suprabasal da epiderme interfolicular. Esta expressão de COX-2 precede a proliferação de queratinócitos (Bardagi et al., 2012). É possível que, caso a irradiação de UVB continue, haja aumento da expressão de COX-2 devido à mutação no gene *p53*. De facto, foi demonstrado que *p53* causa a diminuição marcada na expressão de COX-2 em fibroblastos de ratos (Subbaramaiah et al., 1999). Bardagi et al. (2012) demonstraram, pela primeira vez, através de técnica da deteção de COX-2 por imunohistoquímica, que a COX-2 se expressa em amostras de pele de cães com QA e outras dermatoses inflamatórias. Neste estudo, a expressão de COX-2 foi detetada nos queratinócitos da camada basal e suprabasal de amostras de pele de cães com QA. Ao contrário do que acontece para o CEC, em 95% das amostras de QA, os queratinócitos não se encontravam associados a células inflamatórias. Esta demonstração levanta a possível implicação do ácido agraquidónico/PGs na fotocarcinogénese em cães, tal como já tinha sido sugerido em ratos e no Homem. Pode ser defendido que a expressão de COX-2 não associada com inflamação em lesões pré-neoplásicas pode facilitar a

infiltração de células inflamatórias em lesões mais avançadas, como o CEC. No entanto, este facto não consegue justificar o porquê da observação de células neoplásicas marcadas em CEC ter ocorrido, principalmente, em áreas de erosão ou zonas ulceradas. Estes investigadores não conseguiram esclarecer se é a presença de células inflamatórias que estimula COX-2 através dos queratinócitos neoplásicos ou se é a expressão de COX-2 pelo tumor que facilita a infiltração de células inflamatórias. Mais estudos são necessários para entender o possível papel de inibidores de COX-2 na terapêutica de QA.

No que respeita ao CEC causado por PV, foi também demonstrada, em ratos, a existência da superexpressão de COX-2. A administração de fármacos inibidores de COX-2 suprimiu o desenvolvimento do PV e atrasou a progressão maligna das lesões (Almeida et al., 2001).

As enzimas COX podem ser inibidas pelo uso de anti-inflamatórios não esteroides (AINES) (Teske, 2010). Os AINES atuam inibindo o metabolismo do ácido araquidónico, que é o substrato intracelular para COX e para lipoxigenase produzirem eicosanoides e outras substâncias envolvidas na inflamação. As enzimas COX adicionam oxigénio ao ácido araquidónico, formando endoperóxidos instáveis de PGs que, eventualmente, se convertem a PGs e tromboxanos (Lucroy, 2005). Existem dois tipos de AINES, os clássicos, que não apresentam seletividade em particular para nenhuma das isoformas de COX (a aspirina é um exemplo), e os específicos, que são seletivos para COX-2. Em humanos, os inibidores de COX-2 têm sido usados, com sucesso, na prevenção, tratamento paliativo ou mesmo na remissão completa de vários tumores, incluindo o CEC cutâneo (Teske, 2010). A sua ação em tumores sólidos não extirpáveis e, principalmente, em alguns tipos de carcinoma está comprovada (Lloret, 2008).

Um AINES amplamente usado em medicina veterinária é o piroxicam, um AINES clássico, sem seletividade para COX-2. Assim, este fármaco causa grande inibição da isoenzima COX-1, ou seja, a síntese de PGs constituintes que fazem a proteção gástrica e renal vai ser afetada. Por essa razão, o uso de piroxicam pode, em alguns casos, estar ligado a efeitos secundários a nível gástrico e a nível renal (Lloret, 2008). Um estudo de fase I com piroxicam, em cães com tumores espontâneos, resultou na remissão parcial da doença em 2 dos 5 cães com CEC (Almeida et al., 2001). A sua eficácia deve-se, provavelmente, ao seu efeito imunomodulador. Numa amostra de dez cães com CEC e tratados com piroxicam, foi verificada a sobrevida média de 150 dias (Rodaski & Werner, 2009; Vail & Withrow, 2001). O carprofeno é outro AINES, mas este possui uma seletividade preferencial para inibir COX-2. O seu efeito benéfico tem sido demonstrado em tumores de mama de cadelas (Lloret, 2008). Recentemente, outros dois inibidores seletivos de COX-2, indicados para o tratamento de osteoartrites, ficaram disponíveis para uso em medicina veterinária, o deracoxib e o firocoxib. Estes fármacos com maior seletividade para inibir COX-2, se administrados nas doses recomendadas, vão diminuir os efeitos secundários relacionados com a inibição de PGs constitucionais. No entanto, efeitos secundários associados a estes

fármacos já foram descritos, pois em altas doses, vão inibir também COX-1, logo, é necessária precaução no seu uso. Dentro das doses recomendadas foi verificada boa tolerância a longo prazo. No entanto, são necessários mais estudos relacionados com a aplicação destes fármacos na terapêutica de neoplasias (Lloret, 2008).

É interessante referir que modalidades terapêuticas como a terapia fotodinâmica podem aumentar a expressão de COX-2 nos tumores. A eficácia da quimioterapia e radioterapia é aumentada quando a estas terapêuticas se junta o uso de fármacos inibidores de COX-2 (Lloret, 2008).

6.8- Retinoides

Os retinoides sintéticos são outra modalidade terapêutica usada na tentativa de controlar o CEC em cães. Estes têm sido utilizados, principalmente, para lesões de carcinoma provocadas pela luz solar (Rodaski & Werner, 2009). Os retinoides podem modular a diferenciação e a carcinogénese *in vitro* e *in vivo*, o que os torna úteis como agentes de quimioprevenção ou na terapêutica de lesões neoplásicas. Ainda não está totalmente esclarecido o mecanismo pelo qual estes efeitos ocorrem. Provavelmente, envolve a ligação do retinoide a recetores nucleares, modificando a expressão de vários genes que estão envolvidos no crescimento e diferenciação celular, incluindo genes que codificam fatores de crescimento, sinais de transdução, moléculas de adesão extracelular e proto-oncogenes (Levine, 1998). No entanto, parece que a alteração da promoção de tumores de pele provocada pelos retinoides ocorre apenas em estadios precoces da doença. Em humanos, a administração sistémica de retinoides pode provocar um certo grau de remissão em CEC cutâneo, mas os resultados são incompletos e de curta duração (Levine, 1998). Num estudo realizado em ratos, os investigadores verificaram que em lesões benignas e pré-neoplásicas tratadas com retinoides houve recuperação e não registaram expressão da proteína p53. Nos ratos com tumores malignos, o uso de retinoides não mostrou ser eficaz e a expressão de p53 não se alterou (Levine, 1998). Os retinoides normalmente usados (retinol, isotretinoína, ácido retinoico e etretinato) são substâncias seguras em doses controladas. Os efeitos secundários destas drogas, quando comparados com os efeitos secundários de agentes quimioterápicos antineoplásicos, são mínimos (Levine, 1998). Pontualmente pode-se verificar eritema, rigidez articular e aumento dos níveis das enzimas hepáticas, do colesterol e dos triglicéridos (Thomas & Fox, 1998).

Os retinoides podem ser usados em três estratégias diferentes: quimioprevenção primária, em pacientes saudáveis que se encontram em risco de desenvolver QA ou CEC (devido a exposição solar persistente), quimioprevenção secundária, em pacientes com lesões pré-neoplásicas (QA), ou ainda, num terceiro nível de quimioprevenção, em animais com CEC cutâneo com o objetivo de prevenir o aparecimento de novas lesões neoplásicas (Levine, 1998).

A vitamina A pertence à família dos retinoides e é necessária para o crescimento e desenvolvimento celular normal, pois participa no controlo da expressão genética. Além disso, a vitamina A pode funcionar com pró-oxidante ou antioxidante. Em vários estudos foi observado que a deficiência em vitamina A causa aumento da expressão da proteína p53, pois provoca mutação do gene *p53*. O tratamento com vitamina A diminui a expressão de p53, diminui os efeitos da carcinogénese química e repara mutações (Bukhari, Niazi, Anwar, Chaudhry & Naeem, 2008). A produção de radicais livres ocorre por exposição a agentes cancerígenos que, sob condições de stress, contribuem largamente para o desenvolvimento de tumores. A vitamina A reduz a quantidade de radicais livres produzidos e diminui a expressão da proteína p53 (Bukhari et al., 2008). Rodaski e Werner (2009) e Bukhari et al. (2008) relataram que a vitamina A está associada à remissão parcial ou completa de lesões pré-neoplásicas, mas não foi eficaz no CEC de cães.

O uso de etretinato, outro retinoide, durante 90 dias provocou remissão completa de lesões pré-neoplásicas, mas apenas se verificou remissão parcial em tumores invasivos. A acitretina é o principal metabolismo do etretinato e pode também ser usada (Goldschmidt & Hendrick, 2002). A dose de etretinato deve ser de 1mg/Kg, PO, BID (Nesbitt, 1998).

A terapêutica com retinoides pode ser feita como modalidade única ou em associação com agentes quimioterápicos, hipertermia, vitamina D ou com modificadores da resposta biológica, como por exemplo, o INF (Levine, 1998). Apesar de o uso de retinoides associado à hipertermia ter provocado uma resposta parcial em carcinomas superficiais em cães, o seu uso não interferiu na capacidade de invasão tumoral (Rodaski & Werner, 2009). Um estudo avaliou os efeitos da isotretinoína em combinação com hipertermia de radiofrequência em cães com CEC cutâneo induzido por lesões actínicas. Muitas das lesões diminuíram dramaticamente o seu volume, mas poucas regrediram completamente (Levine, 1998).

Agentes que ativam sinais de transdução, como PQA ou PQC, quando associados aos retinoides podem aumentar os seus efeitos no processo da transdução. A modulação genética pode aumentar a regulação dos recetores de retinoides e a atividade dos mesmos. Houve relatos de respostas positivas a estas terapêuticas, mas a cura real não é frequente (Levine, 1998).

6.9- Imunomoduladores

Várias moléculas com propriedades de modular a resposta imunitária têm sido investigadas na terapêutica oncológica veterinária. Por exemplo, citocinas ou vários tipos de INF são opções promissoras em casos de doenças proliferativas. Contudo, a sua administração parenteral está associada a vários efeitos secundários (Mesquita, Leite, Fachine, Rocha, Leite, Filho & Filho, 2010). O INF recombinante felino mostrou, *in vitro*, ter um efeito antitumoral drástico contra CEC (Scott et al., 2001).

O FNT é uma citocina derivada de macrófagos produzida durante a resposta do hospedeiro a endotoxinas. É citotóxica para células tumorais e causa necrose hemorrágica do tumor, sem afetar as células normais. Afeta a diferenciação, atividade funcional e a expressão de antígenos na superfície celular. O seu mecanismo de ação ainda não é totalmente conhecido. No entanto, verificou-se que tem ação direta na expressão de oncogenes. Parece haver uma relação positiva entre a imunidade tumoral e a regressão induzida por FNT, o que sugere a existência de outros componentes imunológicos envolvidos (Moore, Theilen, Newell, Madewell & Rudolf, 1991).

Outra proteína que pode ser usada na terapêutica oncológica é a IL-2. É produzida por células T CD_4^+ e, em menor quantidade, por células CD_8^+ . É a principal responsável pela progressão dos linfócitos T da fase G1 do ciclo celular para a fase S. IL-2 também atua nos linfócitos B estimulando a produção de anticorpos. Quando a IL-2 livre é administrada localmente, demonstrou melhorar a qualidade de vida dos pacientes oncológicos (Otter, Jacobs, Battermann, Hordijk, Krastev, Moiseeva, Stewart, Ziekman & Koten, 2008). Quando aplicada sistemicamente, a IL-2 induz células T auxiliares específicas e anticorpos, aumentando o efeito antitumoral (Moore et al., 1991). Ainda não é óbvia a relação dose-resposta desta terapêutica, mas, em humanos, tem-se usado uma dose total de 10^3 a 10^5 IU de IL-2 sem efeitos secundários (Otter et al., 2008). A aplicação local de IL-2 parece induzir severa perda de sangue em tumores bem vascularizado, provocando necrose hemorrágica massiva com consequente remissão tumoral rápida. A neoangiogênese permite a migração de macrófagos para o local do tumor, induzindo morte celular e reação imune específica (Otter et al., 2008). O efeito primário da aplicação de IL-2 no tumor é este fenómeno vascular, ao qual se segue uma série de eventos histológicos complexos por parte do hospedeiro, processos esses que culminam na necrose tumoral (Otter et al., 2008). A terapia local de IL-2 demonstrou ser eficaz numa série de tumores, incluindo carcinomas. Também provou ter efeito benéfico em metástases. A terapia combinada de IL-2 e cirurgia, radioterapia ou quimioterapia pode ter um efeito sinérgico muito positivo (Otter et al., 2008). A administração combinada FNT e IL-2 demonstrou provocar regressão tumoral em ratos. Esta combinação permite diminuir a quantidade utilizada de IL-2, evitando os seus efeitos secundários. FNT induz recetores de alta afinidade para IL-2, o que pode ser responsável pelo aumento da imunidade por linfócitos dependente de IL-2 (Moore et al., 1991).

Num estudo realizado por Moore et al. (1991), dos quatro cães com CEC analisados, três obtiveram regressão completa com a terapêutica combinada de FNT (50mg/m^2 - 1200mg/m^2) e IL-2 ($0,75 \times 10^6$ unidades/ m^2 - $1,2 \times 10^7$ unidades/ m^2) durante de três semanas. De forma geral, não se registou toxicidade nos exames hematológicos dos animais tratados. Alguns efeitos gastrointestinais foram descritos. Este estudo sugere que a combinação de FNT e IL-2 pode levar à regressão tumoral em cães, sem efeitos secundários consideráveis.

Também o FCEV e o RFCEV-2 podem ser alvos na terapêutica de CEC, pois foi demonstrada a sua ampla expressão neste tipo de neoplasias, além da sua associação com um maior IP, o que sugere que estes dois fatores estimulam o crescimento tumoral (AL-Dissi et al., 2007).

O imiquimode é uma imidazoquinolina não nucleosídea sintética (1-[2-metilpropil]-1H-imidazo[4,5-c]quinolina-4-amina) e também funciona como imunomodulador. Modifica as propriedades da resposta imunológica *in vitro* e *in vivo*. Tem ação antiviral e antitumoral por aumentar a expressão endógena de citocinas. Contudo, o mecanismo exato pelo qual atua não é conhecido. Supõem-se que os seus efeitos benéficos se devem às suas propriedades imunológicas (Mesquita et al., 2010). Os efeitos farmacológicos associados ao imiquimode estão relacionados com o aumento da imunidade inata e adaptativa. Estimula a indução, síntese e libertação de INF- α e outras citocinas endógenas, incluindo o FNT- α e a IL-6. A parte celular da imunidade adquirida ou adaptativa é estimulada pela indução dos subtipos FNT- α , FNT- γ e IL-12. Esta imunidade é ampliada pela síntese e libertação de FNT- α , outras ILs, da proteína inflamatória de macrófagos-1 α , da proteína quimiotática dos macrófagos-1, dos granulócitos e dos fatores estimuladores de colónias de granulócitos e macrófagos. As citocinas endógenas parecem ser essenciais para estimular a ativação e migração das células de Langerhans para os linfonodos (Mesquita et al., 2010). Alguns estudos afirmam que o imiquimode tem a capacidade de suprimir a proliferação excessiva de fibroblastos, degradando o excesso de colagénio e bloqueando a formação de novo colagénio. Em humanos, este composto foi aprovado para tratamento de papilomas virais, TCB, QA e CEC (Mesquita et al., 2010). Em animais, foi descrito o seu uso, com sucesso, em situações descontroladas de PVC, herpes felinos, papilomas felinos, doença de Bowen em gatos e sarcoide equino (Ferrer, 2005). A recomendação é que o imiquimode seja aplicado topicamente, 2 a 4 dias consecutivos, por semana (Ferrer, 2005). Como a aplicação é tópica as lesões têm que ser localizadas, o que torna o imiquimode uma terapêutica mais conservadora e menos destrutiva do que outras modalidades, como criocirurgia ou cirurgia excisional (Mesquita et al., 2010).

6.10- Vacina

Existem também vacinas antitumorais para algumas neoplasias. O objetivo destas vacinas é desencadear uma resposta imunológica antitumoral que provoque a regressão do tumor ou das suas metástases (Bregman, 2010). O sistema imunitário deteta os tumores por antígenos específicos associados a estes. Os antígenos são reconhecidos quer pelos anticorpos, quer pelos linfócitos T citotóxicos. Estes antígenos são específicos de cada tipo tumoral. Podem ser exclusivos do tumor ou podem ser produtos de genes mutados como *ras*, *p53* ou *p21* (Bregman, 2010). O objetivo deste tipo de terapêuticas é maximizar a

estimulação da resposta imune antineoplásica, ao mesmo tempo, que minimiza a imunossupressão provocada pelo microambiente tumoral (Bregman, 2010).

As proteínas SART-1 são antígenos do CEC, reconhecidos por linfócitos T citotóxicos, foram clonados em humanos e ratos e demonstraram ser úteis na terapêutica desta neoplasia (Takaishi, Yoshida, Nakagaki, Fujita, Taniguchi & Orima, 2008). Takaishi et al. (2008) tentaram desvendar se o antígeno SART-1 poderia também ser usado na terapêutica vacinal em cães com CEC. Para isso, pesquisaram a existência de ARNm de SART-1 em sete cães com CEC. Concluíram que o gene SART-1 isolado em cães foi muito semelhante ao que expressam os humanos. Por esta razão, afirmam que a proteína codificada por o gene SART-1 canino pode ser útil como vacina peptídica em veterinária, tal como acontece em humanos. Verificaram ainda que não houve correlação entre a expressão genética e o grau de diferenciação tumoral.

6.11 – Outras opções terapêuticas

Na literatura estão também descritas a hipertermia que, por norma, é efetiva no tratamento de lesões superficiais de CEC cutâneo, e a terapia com laser, que pode ser útil também em lesões superficiais. Todavia, mais estudos sobre estas terapias são necessários (Scott et al., 2001).

6.12- Terapêutica de suporte - Hipercalcemia

Como foi referido anteriormente, a hipercalcemia pode estar presente em cães com CEC cutâneo. A forma mais indicada de tratamento da hipercalcemia é controlar a causa subjacente, neste caso o CEC. Na maioria das vezes, se se conseguir a remissão do tumor, os níveis de cálcio voltam ao normal em 24-72 horas, podendo o cálcio ser usado como marcador de remissão nestes pacientes (Schenck & Chew, 2006). No entanto, em algumas situações, pode ser necessário iniciar a terapêutica contra a hipercalcemia até que a terapêutica antineoplásica comece a fazer efeito. Nesses casos pode-se expandir o volume sanguíneo recorrendo a fluidoterapia endovenosa com NaCl 0,9%, o que aumenta a excreção de sódio pela urina, diminuindo a reabsorção de cálcio, ou pode-se provocar a diurese recorrendo a um diurético de ansa, como a furosemida (2-4mg/kg, BID ou TID, via endovenosa, subcutânea ou PO). O bicarbonato de sódio deve ser usado se o paciente estiver em perigo de vida. Tem melhor resposta quando em associação com outras terapêuticas. Os glucocorticoides diminuem a reabsorção de cálcio a nível ósseo e intestinal, aumentando assim a sua excreção renal (1-2,2mg/kg de prednisolona, PO, BID, subcutânea ou endovenosa ou 0,1-0,22mg/kg de dexametasona, BID, via subcutânea ou endovenosa). A calcitonina (4-6 mg/kg, BID ou TID, via subcutânea) tem efeitos secundários a longo prazo. Os bifosfonatos (por exemplo, 1,3-2,0 mg/kg de pamidonato em 150ml de NaCl 0,9% em infusão de 2 horas) também podem ser utilizados, pois diminuem a reabsorção óssea de

cálcio. Na literatura, são ainda referidas a mitramicina e a diálise peritoneal como possíveis terapêuticas para diminuir os níveis de cálcio. No entanto, têm vários efeitos indesejáveis associados e deverão ser evitadas (Schenck & Chew, 2006).

7- PROGNÓSTICO

Em cães, o prognóstico de CEC cutâneo é variável e depende essencialmente do grau de diferenciação das células tumorais. Normalmente, é uma neoplasia localmente invasiva, mas que tarda em metastizar. Quanto menor o grau de diferenciação histológica do tumor, maior a probabilidade de ocorrência de metástases, logo, pior será o prognóstico (Rodaski & Werner, 2009). Existem várias opções terapêuticas para abordar pacientes com CEC. O essencial para o sucesso de qualquer uma delas é que o diagnóstico seja feito precocemente, enquanto as lesões são superficiais e pequenas (Rodaski & Werner, 2009). O tamanho do tumor, o aumento do núcleo e as suas variações morfológicas, alterações no padrão de cromatina, atipias nucleolares e IM são características avaliadas no diagnóstico histológico. Estas características têm valor prognóstico e de avaliação de malignidade em vários tumores caninos. No entanto, estes parâmetros podem ter uma avaliação subjetiva, dependendo do patologista que analisar a amostra (Maiolino, Restucci, Papparella & Vico, 2002). Por esta razão, outros fatores com valor de prognóstico, mas de avaliação mais objetiva, foram estudados. É o caso da contagem dos organizadores nucleolares impregnados pela prata (AgNORs), dos índices de proliferação (Ki67, antígeno nuclear de células em proliferação, gene MIB1), dos índices angiogénicos (DMV, FCEV) e da ploidia do ADN. No entanto, estes parâmetros exigem técnicas de avaliação complexa, o que os torna difíceis de avaliar de forma rotineira (Maiolino et al., 2002). A morfometria nuclear computadorizada é um método objetivo que permite avaliar a área nuclear média (ANM) e o perímetro nuclear médio (PNM) de forma rápida e pode ser realizado com recurso à microscopia convencional. Maiolino et al. (2002) comprovaram que existe uma associação entre ANM, PNM e o grau histológico de CEC em cães, podendo, por essa razão, serem utilizados como indicadores de prognóstico e de previsão do comportamento biológico. Neste estudo, em casos de CEC metastático a ANM foi $107,69 \mu\text{m}^2$ e o PMN $40.54 \mu\text{m}$, valores bastante superiores aos observados em CEC não metastáticos, ou seja, com menor grau de malignidade.

As variações no ritmo de crescimento celular, controlo do ciclo celular e atividade proliferativa também podem ajudar a prever o comportamento invasivo e as propriedades metastáticas de cada tumor (Bukhari et al., 2008).

A pesquisa da proteína p53 classifica a sua expressão como positiva ou negativa, não demonstrando os diferentes graus de intensidade da sua expressão. Perante este sistema, Bukhari et al. (2008) propuseram um novo método de classificação de p53, que divide as amostras positivas em 6 graus, desde o grau 0 (0-5%) ao grau V (> 50%). Realizaram estudos em ratos com CEC e verificaram, por técnicas de imunohistoquímica, que os diferentes graus histológicos de CEC apresentavam diferentes intensidades de expressão de p53. Assim, quanto menos diferenciado for o tumor, maior o grau de expressão de p53. A quantificação da expressão da proteína p53 é uma técnica que pode ser usada, sempre que necessário, como suporte do diagnóstico rotineiro de CEC. Este novo sistema de classificação de p53 pode também ser usado como fator de prognóstico e de verificação da eficácia do tratamento de CEC (Bukhari et al., 2008).

Num estudo mais recente, Maiolino, Papparella, Restucci e Vico (2001) verificaram que a DMV também pode ser usada como critério de avaliação da malignidade intrínseca e do potencial de crescimento tumoral, o que o torna um bom fator de prognóstico. Procederam à quantificação de microvasos usando técnicas de análise computadorizada de imagem. Verificaram a expressão DMV é mais intensa em CEC pouco diferenciado do que em CEC bem diferenciado ou moderadamente diferenciado. Neste estudo usaram CD31 como marcador de vasos, por considerarem ser o mais adequado para marcação vascular no CEC de cães (os marcadores Qbend 10 e CD34 provaram não ser apropriados).

No entanto, Ohlerth, Bley, Luluhová, Roos e Hotz (2010) realizaram a avaliação da vascularização média e do volume de sangue existente em alguns tipos de tumores caninos, incluindo o CEC, antes e depois do tratamento radioterápico. Para esta avaliação realizaram ecografias com *doppler* de contraste nos diferentes estádios de tratamento. Ao contrário da hipótese que levantaram, os investigadores concluíram que a vascularidade e o volume de sangue do tumor não variaram de forma significativa ao longo das várias observações, logo, estes parâmetros não demonstraram relevância no prognóstico. Estes resultados contrariam o que afirmaram os investigadores do estudo supracitado. Contudo, os autores ressalvam que este resultado se poderá dever ao diminuto número de tumores investigados, ou à técnica utilizada para a avaliação. No estudo supracitado a técnica usada para avaliar a DMV foi a imunofluorescência, o que pode fornecer uma informação biológica diferente da obtida por ecografia com *doppler* de contraste.

É sabido que a proliferação celular pode influenciar o quadro clínico e, consequentemente, o prognóstico de lesões tumorais. Para avaliar o IP pode ser usada a expressão da proteína Ki-67. A expressão de Ki-67 começa a ser detetada na fase S do ciclo celular e aumenta na fase G2, atingindo a sua maior concentração na fase M. Este fator tem sido avaliado em cães com neoplasias mamárias e melanomas (Costa, 2009). Investigadores constataram que o aumento da proliferação celular em cães com CEC (avaliando a expressão de Ki-67) está relacionado com a expressão elevada do FCEV (Al-Dissi et al., 2007). Em cães com

mastocitoma, a baixa expressão de Ki-67 foi associada com maior sobrevida. Em humanos, a sua expressão também possui valor de prognóstico em doenças pré-neoplásicas, como a QA (Costa, 2009). A atividade proliferativa determinada por técnicas de imunohistoquímica pode também prever a suscetibilidade do tumor à quimioterapia, pois a maioria dos fármacos antineoplásicos atua na divisão celular (Costa, 2009).

Durante a transição epitélio-mesenquimal pode-se detetar a presença de vimentina epitelial, um marcador de diferenciação do mesênquima. Este marcador pode também ser um indicador de carcinomas com comportamento mais agressivo (Bongiovanni, Antonio, Romanucci, Malatesta, Sforza, Mechelli, Salda & Brachelente, 2012). Bongiovanni et al. (2012) verificaram que na epiderme normal e em zonas histológicas bem diferenciadas de CEC em cães a vimentina não é expressa. No CEC a presença de vimentina variou de 0% a 50% e apresentou-se principalmente em zonas invasivas do tumor. A expressão de vimentina provoca um aumento da expressão de β -catenina. Neste estudo, foi demonstrada também a presença de vimentina em êmbolos neoplásicos e em linfonodos invadidos por metástases. Verificaram que poucas células demonstraram co-localização de vimentina e β -catenina. Baseado no anteriormente exposto, os investigadores chegaram à conclusão que a expressão de vimentina pode estar relacionada com baixo grau de diferenciação histológica em CECs de cães. A expressão deste marcador mesenquimal em células tumorais invasivas com localização subcelular anormal de β -catenina, sugere que essas células estão a atravessar transição epitélio-mesenquimal.

Em humanos, a invasão perineural e a profundidade tumoral são fatores considerados como tendo um mau prognóstico na evolução tumoral. Em medicina veterinária, o papel destes fatores ainda não foi desvendado (Gross et al., 2005). Costa (2009) verificou que na sua amostra de 20 cães (10 com QA e 10 com CEC) apenas um dos animais que sofria de CEC na zona da bolsa escrotal apresentou invasão perineural. A evolução da doença, neste caso, foi rápida. Por ter sido apenas um animal da amostra a apresentar esta característica, não foi considerado um facto relevante para estabelecer uma relação fidedigna entre invasão perineural e o prognóstico do CEC em cães.

Em medicina humana, comprovou-se ainda a utilidade de várias outras moléculas e índices com valor no prognóstico do CEC. Contudo, o valor de muitas desses fatores em medicina veterinária ainda não é certo. São exemplos, o gene Bcl-2 (Dornelas, Machado, Ferreira, Rodrigues & Gollner, 2009) e o índice inflamatório celular (Arono, Mastoraki, Kyriazi, Ioannidis & Patsouris, 2007).

PARTE II – RELATO DE CASOS CLÍNICOS

Como foi referido anteriormente, a latitude e a altitude interferem na quantidade e na intensidade dos raios UV que atingem a superfície terrestre, consequentemente, estes fatores vão influenciar a incidência de CEC cutâneo. Na cidade de Lisboa, por exemplo, a latitude é 38° 42' 30,5" e a altitude varia entre os 6 e os 226 metros (Câmara Municipal de Lisboa, 2012, disponível em: www.cm-lisboa.pt/?idc=4). Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil, local de realização do estágio curricular, encontra-se a uma latitude de -22° 30' 18" e altitude de 809 metros (NetPetrópolis, 2005, disponível em: www.netpetropolis.com.br/materias.php?cd_secao=114&codant=&friurl=em).

Tendo em conta que a radiação solar é mais intensa a altas altitudes e baixas latitudes, é de esperar que haja maior incidência do CEC cutâneo nos animais habitantes da cidade de Petrópolis do que nos animais que habitam a cidade de Lisboa.

Os casos clínicos seguidamente relatados foram acompanhados durante a realização do estágio curricular no HVC em Petrópolis.

1. CASO CLÍNICO 1 – “LADY”

No dia 28 de dezembro de 2011, foi levada ao HVC a “Lady”, uma cadela de raça Dogue Alemão, com 6 anos de idade, de pelagem branca com pequenas manchas pretas, não esterilizada e com vacinação e desparasitação em dia. A “Lady” foi referenciada à consulta de oncologia por apresentar lesões de pele que não cicatrizavam. Ao exame clínico a “Lady” apresentava bom estado geral. Porém, manifestava múltiplas lesões de pele disseminadas pela zona ventral do abdómen e face interna dos membros posteriores. Verificou-se a existência de lesões eritematosas, nodulares e de algumas úlceras. Apresentava dois nódulos na zona inguinal direita, um deles com 3,3cm x 2,4cm x 1,0cm e o outro, ulcerado, com 4,6cm x 2,5cm x 2,3cm. As úlceras exibiam dimensões que variavam entre os 0,8cm x 1,0cm e 4,6cm x 2,5cm. As lesões foram registadas por fotografia e desenhadas num mapa esquemático do corpo do animal.

Dada a localização e o aspeto das lesões e por se tratar de um animal de pelagem branca e pele maioritariamente despigmentada, a principal suspeita clínica foi de CEC cutâneo.

Numa primeira abordagem, para avaliar o estado geral do animal, fez-se colheita de sangue para hemograma e exames bioquímicos. Realizou-se biópsia de pele com recurso a biótomo e anestesia local com lidocaína. Na biópsia foram coletados dois fragmentos que foram enviados para exame histopatológico.

Enquanto se aguardava pelos resultados do exame histopatológico, aconselhou-se o proprietário a não deixar a “Lady” em exposição solar, vestir-lhe uma peça de roupa para proteção e aplicar-lhe um protetor solar, de fator superior a 30, preferencialmente hipoalergénico, várias vezes ao dia por tempo indeterminado. Estas ações tinham o objetivo de provocar regressão das lesões de dermatite solar existentes e evitar o aparecimento de novas lesões. Prescreveu-se rifocina em *spray* (Rifotrat®) para ser aplicada topicamente na zona das lesões ulceradas, TID, até estas secarem. Foi proposto ao proprietário iniciar a administração de um anti-inflamatório, este declinou, preferindo iniciar a terapêutica só após o conhecimento dos resultados histopatológicos.

O relatório histopatológico indicou o seguinte: “um dos fragmentos enviados exibia neoplasia constituída por queratinócitos atípicos e pérolas córneas. A derme circunjacente mostrava alterações degenerativas do colagénio. O outro fragmento enviado exibia neoplasia mesenquimatosa benigna, configurando espaços vasculares, revestidos por endotélio sem atipias.” A conclusão do exame histopatológico veio confirmar a suspeita de “Carcinoma Espinocelular bem diferenciado”. Além disso, foram também diagnosticadas lesões compatíveis com hemangioma e dermatite solar. O hemograma e os exames bioquímicos não apresentaram alterações.

No dia 10 de janeiro de 2012, realizou-se novo exame físico. Além das lesões cutâneas anteriormente descritas, que não tinham sofrido alterações desde a última consulta, o exame continuava sem alterações dignas de registo (Figura 7). Decidiu-se iniciar uma terapêutica medicamentosa para tentar diminuir as lesões e mais tarde poder realizar a recessão cirúrgica. Assim, foi receitado carprofeno (Carproflan 100mg®) um comprimido e meio, PO, BID, durante 14 dias e manteve-se a aplicação tópica de rifocina. Advertiu-se, uma vez mais, o proprietário que a restrição solar teria de se manter indeterminadamente.



Figura 7 – “Lady”, na segunda consulta no serviço de oncologia do HVC, antes de iniciar a terapêutica com carprofeno. Eram visíveis nódulos (setas pretas), úlceras (seta vermelha) e eritema generalizado. (Original).

No dia 26 de janeiro, o proprietário retornou com “Lady” à consulta para que se pudesse fazer a avaliação da resposta ao tratamento instituído. Os nódulos encontravam-se em regressão. Decidiu-se manter a medicação por mais 14 dias, e nessa altura, fazer nova revisão e avaliar se já seria possível realizar cirurgia de extirpação dos nódulos.

No dia 10 de fevereiro, o proprietário retornou com a paciente à consulta. Pôde-se constatar que o eritema generalizado era mínimo, tinha sofrido uma regressão muito considerável. As lesões nodulares tinham diminuído, apresentando agora 2,2cm x 1,6cm x 0,8cm e 3,5cm x 1,5cm x 1,0cm, respetivamente. As úlceras em geral tinham também regredido (Figura 8).

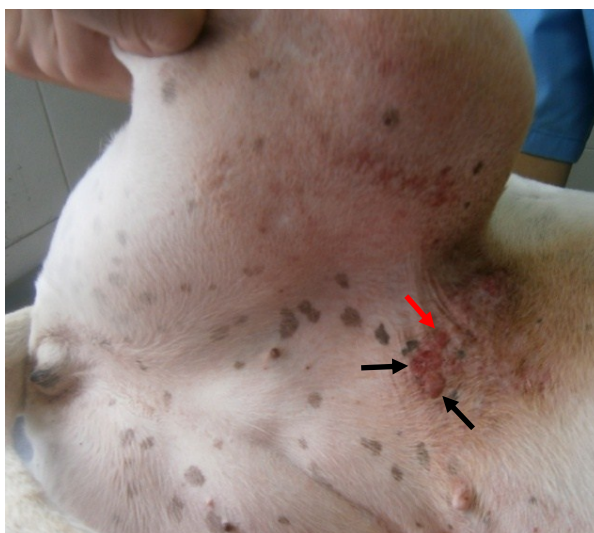


Figura 8 – “Lady”, na quarta consulta no serviço de oncologia do HVC, após 30 dias de terapêutica com carprofeno. Foi visível a diminuição dos nódulos (setas pretas), das úlceras (seta vermelha) e do eritema generalizado. (Original).

Assim, realizou-se cirurgia no dia 14 de fevereiro de 2012, para extirpação das lesões nodulares ainda existentes. A cirurgia correu bem e o animal teve alta hospitalar no dia seguinte.

As lesões retiradas foram enviadas para o laboratório de anatomia patológica para avaliação das margens cirúrgicas. A administração de carprofeno foi suspensa, mas advertiu-se o proprietário que a exposição solar devia ser restrita para o resto da vida da paciente e que havia possibilidade de recorrência das lesões em outros locais, por essa razão deveria estar atento e retornar à consulta com a “Lady” ao mínimo sinal de recidiva.

Neste caso o AINES prescrito foi o carprofeno e não o firocoxib por motivos económicos.

2. CASO CLÍNICO 2 – “ARAMIS”

O “Aramis” é um cão de raça Labrador Retriever com dez anos de idade de pelagem amarela clara.

O proprietário do “Aramis” apresentou-se à consulta com o seu cão no dia 26 de outubro de 2011. O estímulo iatrotópico relacionava-se com a presença de um nódulo ulcerado na zona ventral do tórax.

Realizou-se a anamnese, tendo o proprietário referido que o “Aramis” passava várias horas por dia no terraço a “apanhar banhos de sol”. O animal não se encontrava castrado e as vacinas e desparasitações estavam em atraso. No exame físico o animal apresentou bom estado geral, embora tivesse claro excesso de peso. Os parâmetros cardiovasculares e a palpação abdominal estavam dentro da normalidade. Porém, os parâmetros respiratórios apresentavam-se aumentados (60rpm). Registou a presença de um nódulo na zona ventral do tórax, subjacente ao esterno. Este nódulo era único, apresentava-se ulcerado, hiperémico e tinha dimensão de 10,3cm x 5,8cm x 2,5cm. A pele da zona ventral do tórax e do abdómen encontrava-se eritematosa e com forte descamação.

Após a primeira consulta, o diagnóstico presuntivo foi de CEC cutâneo acompanhado de lesões de dermatite solar.

Como se tratava de um nódulo único, optou-se por fazer uma biópsia excisional e enviar o material biopsado para exame histopatológico, a fim de obter a confirmação da suspeita. Fez-se colheita de sangue para os exames pré-operatórios e, como o animal se encontrava taquipneico (apesar da auscultação pulmonar não ter apresentado alterações além do aumento da frequência respiratória), propôs-se ao proprietário a realização de radiografias torácicas.

O CEC é uma neoplasia localmente invasiva que tarda em metastizar. O animal em causa encontrava-se muito excitado na consulta, tinha excesso de peso e era um dia de muito calor. Ou seja, a probabilidade da taquipneia se dever há existência de nódulos pulmonares metastáticos era baixa, mas ainda assim, considerou-se prudente realizar radiografias torácicas para descartar, não só a possibilidade de metástases pulmonares, mas também de outros processos patológicos subjacentes que poderiam alterar o curso do protocolo terapêutico sugerido. Realizaram-se três radiografias, latero-lateral direita, latero-lateral esquerda e ventro-dorsal. O estudo radiográfico não apresentou alterações dignas de registo e atribuiu-se a taquipneia do animal ao excesso de peso, à excitação e ao calor.

Para casa prescreveu-se firocoxib (Previcox 227 mg[®]), um comprimido, PO, SID, durante 14 dias e a cirurgia ficou agendada para 15 dias depois. Advertiu-se o proprietário que os “banhos de sol” do “Aramis” estavam estritamente proibidos, mesmo através do vidro da janela, e que seria aconselhável aplicar-lhe protetor solar de fator superior a 30, repetindo a

aplicação várias vezes ao dia e, que caso considerasse necessário, deveria ainda colocar-lhe uma peça de roupa protetora.

Os resultados dos exames pré-operatórios não apresentaram alterações e, no dia 14 de novembro de 2011, o “Aramis” foi submetido a cirurgia para extirpação do nódulo. No dia da cirurgia o nódulo apresentava 7,0cm x 4,3cm x 2,0cm. A pele do tórax e do abdómen ventral continuava com descamação, mas muito menos eritematosa do que na primeira consulta. A cirurgia foi realizada com sucesso e o tumor extirpado com margens de segurança de aproximadamente 3cm. O nódulo retirado foi enviado para exame histopatológico. O animal recuperou bem da cirurgia e teve alta hospitalar no próprio dia.

Uma semana após a cirurgia chegou o resultado do exame histopatológico, em que a amostra enviada foi descrita da seguinte forma: “pele exibindo neoplasia epitelial constituída por proliferação de queratinócitos atípicos. Presença de áreas de microinvasão estromal e de processo inflamatório misto circundando a lesão”, concluindo que a amostra enviada correspondia a um nódulo de “Carcinoma Espinocelular bem diferenciado”.

Como o paciente apresentava apenas um nódulo, e como a resolução cirúrgica é a modalidade terapêutica que apresenta melhores resultados a longo prazo, considerou-se que o “Aramis” se encontrava clinicamente livre de doença. Instruiu-se o proprietário a manter a restrição solar durante o resto da vida do animal, pois as lesões de descamação e eritema, típicas de dermatite solar, poderiam evoluir para CEC caso a exposição solar continuasse. Advertiu-se ainda que havia a possibilidade de recorrência das lesões neoplásicas em outras localizações, pelo que deveria estar atento a qualquer alteração.

Até ao dia 2 de março, dia do término do meu estágio, o “Aramis” tinha sido levado às consultas de revisão mais 3 vezes, sempre sem lesões neoplásicas aparentes.

Nota: Por motivos de ordem técnica não será possível apresentar fotografias referentes a este caso.

3. CASO CLÍNICO 3 – “JUJUBA”

A “Jujuba” é uma cadela de raça boxer, com 9 anos de idade, de pelagem branca, pele com zonas despigmentadas e outras pigmentadas, não esterilizada e com vacinações e desparasitações em dia. Aos 7 anos de idade, “Jujuba” foi diagnosticada com Cardiomiopatia Dilatada, para a qual estava a ser medicada e se encontrava estabilizada.

O proprietário levou a “Jujuba” à consulta de oncologia no HVC no dia 9 de janeiro de 2012. No exame físico verificou-se a presença de múltiplas lesões cutâneas disseminadas pela área ventral despigmentada do tórax e abdómen, mas também na face interna dos membros posteriores. O restante exame não apresentou alteração, exceto na auscultação cardíaca,

em que foi perceptível um sopro de grau III. Entre as lesões cutâneas encontradas identificou-se a presença de eritema, descamação, crostas, úlceras e ainda algumas lesões nodulares. Algumas das lesões ulceradas eram também exsudativas. Registou-se a existência de 4 nódulos, 3 deles ulcerados. O nódulo maior tinham 5,3cm x 3,8cm x 3,0cm e o menor apresentava 2,7cm x 1,8cm x 1,5cm. As úlceras variavam entre 0,5cm x 0,5cm e 5,3cm x 3,8cm de dimensão. A paciente apresentava prurido moderado. As lesões foram todas fotografadas e registadas em mapa esquemático do corpo do animal para melhor acompanhamento da sua evolução. A principal suspeita clínica foi de CEC cutâneo.

Propôs-se ao proprietário que fosse feita biópsia de pele representativa das lesões e que as amostras obtidas fossem enviadas para exame histopatológico, para assim poder obter um diagnóstico preciso. A biópsia incisional foi realizada com recurso a biótomo e anestesia local com lidocaína.

Enquanto se esperava pelo resultado do exame histopatológico prescreveu-se cefalexina (Cefalexina 500mg[®]), dois comprimidos, PO, BID, durante 10 dias, para combater a infeção bacteriana (manifestada pelo exsudado das lesões ulceradas) e prednisolona (Meticorten 20mg[®]), dois comprimidos, PO, SID, por 7 dias, depois passar para um comprimido, PO, SID, por 7 dias, e por último dar meio comprimido, PO, durante mais 7 dias, até suspender por completo a sua administração. O uso de prednisolona foi indicado pelo facto de a paciente apresentar inflamação intensa e prurido nas lesões, o que provocava auto-traumatismo piorando o quadro lesional.

O resultado histopatológico da biópsia foi compatível com “neoplasia epitelial maligna, constituída pela proliferação de queratinócitos escamosos com atipias nucleares moderadas, infiltrando a derme e raramente esboçando pérolas córneas”. Concluiu-se tratarem-se de lesões de “Carcinoma Espinocelular moderadamente diferenciado”.

Contactou-se o proprietário para o informar do resultado histopatológico e foi adicionado à terapêutica anteriormente prescrita o AINES firocoxib (Previcox 227 mg[®]), sendo administrado um comprimido, PO, SID, durante 14 dias. Foi também prescrita rifocina *spray* (Rifotrat[®]) para ser aplicada nas áreas ulceradas, TID, até as lesões secarem. Aconselhou-se o proprietário a não deixar a “Jujuba” em exposição solar, vestir-lhe uma peça de roupa para proteção e aplicar-lhe protetor solar, de fator superior a 30, várias vezes ao dia durante o resto da sua vida.

No dia 31 de janeiro de 2012, a paciente foi trazida à consulta para avaliação da resposta à terapêutica instituída. Verificou-se uma ligeira diminuição dos nódulos cutâneos e do eritema, ausência de exsudado e as lesões ulcerativas de menores dimensões encontravam-se encerradas. Contudo, as úlceras maiores continuavam presentes, apesar de se verificar uma discreta redução das mesmas (Figura 9). O proprietário relatou que a “Jujuba” já não apresentava prurido. Optou-se por manter a terapêutica com o AINES, com a rifocina e foi pedido ao proprietário para retornar 15 dias mais tarde para nova avaliação.



Figura 9 – “Jujuba” após 14 dias de terapêutica com firocoxib. São visíveis os nódulos (setas vermelhas) no abdômen ventral e zona de descamação (seta preta) na pele do tórax ventral. (Original).

No dia 14 de fevereiro de 2012, o proprietário retornou ao hospital com a paciente para uma consulta de revisão. Ao exame físico demonstrou bom estado geral. No entanto, os nódulos da região ventral do abdômen mantiveram-se estáveis, não tendo diminuído de tamanho. Abordou-se com o proprietário a possibilidade de realizar uma cirurgia paliativa. Nessa cirurgia seriam retirados os nódulos e úlceras de maiores, assim como as zonas de pele mais afetadas. Porém, este mostrou-se reticente por se tratar de uma cadela com cardiomiopatia dilatada. Discutiu-se a possibilidade de a paciente ser submetida a terapia fotodinâmica que, apesar de ser mais eficiente em lesões inferiores a 3cm, poderia ser benéfica para o caso da “Jujuba” que apresentava lesões de várias dimensões e diversos estadios disseminadas na pele da zona ventral do tórax, abdômen e na face interna dos membros posteriores. No entanto, uma vez mais, o proprietário recusou a proposta por se tratar de um procedimento dispendioso. Acordou-se então, fazer aplicações semanais de 5-FU endovenoso, para tentar diminuir as lesões. Fez-se aplicação de $150\text{mg}/\text{m}^2$ que, neste caso, por se tratar de uma cadela com aproximadamente 32 kg correspondeu a uma dose de 150mg de 5-FU. As lesões foram novamente fotografadas antes do início do tratamento. Na terceira semana de aplicação de 5-FU, dia 29 de fevereiro de 2012, a “Jujuba” foi levada à consulta, onde se verificou que as lesões nodulares e ulceradas da região abdominal não tinham sofrido regressão das suas dimensões desde o início do tratamento com 5-FU (Figura 10).



Figura 10 – Lesões nodulares (setas vermelhas) e zona de descamação (seta preta) na pele da “Jujuba” após a terceira aplicação de 5-FU endovenoso, no serviço de oncologia do HVC. (Original).

Com o finalizar do meu estágio no dia 2 de março, foi-me impossível acompanhar a conclusão do tratamento de seis semanas com 5-FU. Porém, foi-me adiantado que a regressão das lesões foi pouco significativa e que o proprietário decidiu não tentar outras opções terapêuticas que lhe foram propostas, como a aplicação tópica de imiquimode. Comprometeu-se apenas em cumprir a restrição solar (que na nossa opinião não estaria a ser devidamente efetuada), manter a aplicação de rifocina nas zonas ulceradas e a administração de antibiótico e corticosteroides sempre que as lesões se apresentassem infectadas e/ou pruriginosas.

4. CASO CLÍNICO 4 – “PRINCESA”

A “Princesa” é uma cadela de raça Caniche, de pelagem branca e com 12 anos de idade. Foi referenciada ao serviço de oncologia do HVC por apresentar um nódulo ulcerado na região abdominal.

O proprietário apresentou-se com a “Princesa” à consulta no dia 7 de novembro de 2011, não se encontrava esterilizada e o esquema de vacinação e desparasitação estavam completos. No exame físico não foram observadas alterações dignas de registo, além da presença de tártaro exuberante e de um nódulo na região do abdómen ventral. O nódulo encontra-se aderente à glândula mamária M5 direita; Estava hiperémico, ulcerado e tinha 2,5cm x 2,3 cm x 1,0cm de dimensão. A pele circundante ao nódulo, e a restante pele da zona ventral do animal, não apresentava nenhum tipo de alteração. Os linfonodos inguinais, direito e esquerdo, estavam normodimensionados.

A suspeita clínica inicial, tendo em conta a idade da “Princesa” e por se tratar de uma cadela não castrada, foi de o nódulo registado corresponder a uma neoplasia mamária. Decidiu-se

que a melhor opção terapêutica seria a realização de cirurgia para extirpação do nódulo e seguidamente envia-lo para exame histopatológico. Foi feita colheita de sangue para os exames pré-operatórios.

Como os resultados dos exames de sangue não mostraram nenhum valor fora dos parâmetros considerados normais, foi realizada a cirurgia no dia 21 de novembro. Por se tratar de um nódulo em M5, sendo a suspeita clínica de neoplasia mamária, retirou-se além do nódulo propriamente dito e de M5, as glândulas mamárias direitas M3 e M4. As glândulas mamárias M3, M4 e M5 drenam para o linfonodo inguinal ipsilateral, sendo que sempre que uma delas está afetada por um nódulo neoplásico está indicado fazer a extirpação das três.

Enviou-se a amostra para laboratório de Anatomia Patológica e o resultado obtido descrevia a amostra da seguinte forma: “pele exibindo neoplasia epitelial pouco diferenciada em arranjo sólido predominante”, concluindo que se tratava de um “Carcinoma Espinocelular pouco diferenciado”. Este resultado veio contrariar a suspeita clínica que tinha sido levantada na primeira consulta, demonstrando, mais uma vez, a importância de um exame histopatológico para o diagnóstico definitivo, em detrimento de um diagnóstico presuntivo baseado apenas nas características macroscópicas das lesões.

Contudo, e por se tratar de um único nódulo de CEC, a extirpação cirurgia seria igualmente o protocolo terapêutico eleito. Por essa razão, comunicou-se ao proprietário o resultado da biópsia e, apesar da “Princesa” aparentemente não apresentar lesões actínicas na pele, aconselhou-se restrição à exposição solar e aplicação de protetor solar de fator superior a 30, várias vezes ao dia. Pensa-se que, neste caso, apesar de se tratar de um animal de pelagem clara e pele despigmentada, a etiologia do CEC da “Princesa” possa não ter sido a radiação UV por exposição solar, pois a paciente não apresentava nenhum tipo de alteração que indicasse a lesão actínica da pele. No entanto, não foi possível determinar que outro fator etiológico pudesse ter estado na origem deste CEC.

No dia 13 de fevereiro de 2012, o proprietário da “Princesa” voltou a trazê-la à consulta por apresentar um novo nódulo na face interna do membro posterior direito, com 1,3cm x 0,9cm x 1,0cm, desta vez o nódulo não se apresentava ulcerado nem hiperémico. Ponderou-se a realização de uma nova cirurgia, mas o proprietário não consentiu, alegando a idade do animal e o facto de este ter sido submetido a uma anestesia geral recentemente. Desta forma, propôs-se iniciar a administração de firocoxib (Previcox 57 mg[®]), um comprimido, PO, SID, durante 14 dias até nova avaliação. Advertiu-se, uma vez mais, que a restrição solar e a aplicação do protetor solar deviam ser mantidas durante o resto da vida da “Princesa”.

No dia 27 de fevereiro, a paciente foi novamente trazida à consulta, o nódulo apresentava-se praticamente impercetível. Instruiu-se o proprietário a suspender a administração do Previcox 57 mg[®] e a ficar atento, pois existia a possibilidade de recorrência das lesões.

Nota: Por motivos de ordem técnica não será possível apresentar fotografias referentes a este caso.

5. CASO CLÍNICO 5 – “RANIA”

A “Rania” é uma cadela de raça Pit Bull, com 9 anos de idade, pelagem malhada (branca e castanha), esterilizada e com esquema vacinal e desparasitações em dia. Aos 5 anos de idade a paciente foi diagnosticada com hipotireoidismo, esta condição está controlada com medicação adequada. No entanto, a paciente continua a apresentar excesso de peso.

O proprietário recorreu ao HCV com a “Rania” no dia 28 de junho de 2010, tendo como estímulo iatrotópico a existência de lesões cutâneas pruriginosas no abdômen ventral da sua cadela. Ao exame físico a paciente encontrava-se em bom estado geral. Porém, apresentava lesões cutâneas na parte ventral do abdômen, em áreas de pele despigmentadas e de pelagem branca, lesões essas que se caracterizavam por áreas eritematosas, crostas, descamação e algumas pápulas. As lesões foram registadas por fotografia e desenho esquemático. Foi referido pelo proprietário que o “passatempo” favorito da “Rania” era apanhar “banhos de sol”.

A principal suspeita clínica, dado a localização e características das lesões, assim como por se tratar de uma animal de pelagem branca, pele despigmentada e com hábitos de exposição solar, foi de dermatite solar e/ou QA. Para confirmar suspeita foi feita biópsia de pele com biótomo.

Enquanto se esperava pelo resultado da biópsia, foi instituída terapêutica com uma pomada à base de gentamicina, betametazona e miconazol (Dermolene creme®), aplicada topicamente, BID, e prednisolona (Meticorten 20mg®), dois comprimidos, PO, SID, por 7 dias, passar a dar um comprimido, PO, SID, por 7 dias, e por último fazer mais 7 dias com meio comprimido. A prednisolona tinha como objetivo diminuir a intensa inflamação associada e, consequentemente, diminuir o prurido. Aconselhou-se o proprietário a não deixar a “Rania” em exposição solar, vestir-lhe uma peça de roupa e aplicar-lhe protetor solar de fator superior a 30, preferencialmente hipoalergénico, por tempo indeterminado. O resultado da biópsia veio confirmar a suspeita.

No dia 30 de dezembro de 2010, “Rania” foi levada ao hospital devido ao agravamento das lesões de dermatite, que agora se manifestavam por quase todas as áreas não pigmentadas do seu corpo. A pele apresentava-se eritematosa, com descamação e com exsudado purulento. Registaram-se também lesões ulceradas e nodulares. As lesões eram mais predominantes na zona do abdômen ventral e lateral e apresentavam dimensões variadas. A paciente demonstrava grau de prurido intenso. Foi feita nova biópsia de pele e, enquanto se aguardava pelos resultados do exame histopatológico, foi receitado prednisolona

(Meticorten 20mg[®]), em igual dosagem à anteriormente prescrita, azitromicina (Zitrex 500[®]), ¾ de comprimido, PO, SID, durante três dias e ranitidina (Cloridrato de Ranitidina 150mg[®]) um comprimido, PO, BID, por 14 dias. Neste caso optou-se pela azitromicina por ser um potente antibiótico. A ranitidina foi prescrita para prevenir os efeitos secundários inerentes à azitromicina.

O resultado do novo exame histopatológico foi: “neoplasia de origem epitelial ulcerada, constituída por proliferação de queratinócitos atípicos, por vezes configurando pérolas córneas na derme superficial e profunda. Presença de alterações sugestivas de dermatite solar associada”, sendo o diagnóstico final de “Carcinoma Espinocelular bem diferenciado associado a lesões de dermatite solar”.

Quando o proprietário retornou com a paciente, 14 dias mais tarde para a consulta de revisão, realizou-se novo exame físico, no qual não se detetou nenhuma alteração digna de registo. No que respeita às lesões de pele, verificou-se uma melhoria significativa. As lesões já não exsudavam, as úlceras estavam muito diminuídas e as lesões nodulares tinham reduzido de tamanho, apenas se podia registar a existência de descamação. Com base no resultado histopatológico, instituiu-se terapêutica com vitamina A (Arovit 50.000 UI[®]), um comprimido, PO, SID, durante 120 dias, com o objetivo de melhorar as lesões actínicas pré-neoplásicas, e rifocina *spray* para aplicar nas lesões ulceradas, TID, até regressão. Decidiu-se não iniciar tratamento com anti-inflamatório, pois a paciente encontrava-se com o quadro lesional estabilizado e as lesões tinham dimensões reduzidas. Dada a disseminação do quadro não se considerou oportuno fazer cirurgia.

Aproximadamente sete meses após esta última ocorrência, no dia 5 de agosto de 2011, o proprietário levou “Rania” à consulta. A paciente apresentava lesões ulceradas, nodulares e extensas zonas eritematosas na área ventral e lateral do abdómen e face interna dos membros posteriores. Havia exsudado purulento (piodermatite). Iniciou-se a administração carprofeno (Carproflan 100mg[®]), um comprimido, PO, BID, durante 10 dias, cefalexina (Cefalexina 500mg[®]), dois comprimidos, PO, BID, durante 10 dias, e banhos com shampoo de clorexidina (Clorexiderme Shampoo[®]), uma vez por semana durante seis semanas. O carprofeno tinha como intuito a diminuição das lesões, enquanto a cefalexina e clorexidina shampoo tinham a função de debelar a infeção bacteriana existente. Instruiu-se o proprietário a manter a vitamina A, a rifocina e a restrição solar. Discutiu-se a possibilidade de realizar cirurgia de extirpação dos nódulos e lesões ulceradas, logo que o animal estabilizasse e apresentasse alguma melhoria do quadro lesional.

“Rania” foi levada à consulta no dia 19 de outubro de 2011, as lesões que apresentava não se encontravam infeccionadas e tinham regredido. No momento desta consulta existia algumas lesões ulceradas, a maior com 3,5cm x 3,0cm, e era perceptível a existência de 3 nódulos, um no abdómen lateral direito, com 4,3cm x 2,4cm x 2,5cm, e outros dois no abdómen ventral, com 3,8cm x 3,5cm x 2,7cm e 3,5cm x 3,0cm x 1,3cm. A pele estava

eritematosa, com descamação e muito adelgada, eram também visíveis algumas pápulas. Fez-se o registo fotográfico das lesões (Figura 11). Acordou-se com o proprietário que seria o momento para fazer a cirurgia. Colheu-se sangue para os exames pré-operatórios, foi prescrito carprofeno (Carproflan 100mg[®]), na anterior dosagem, durante 21 dias, na tentativa de reduzir ao máximo a dimensão das lesões antes do procedimento cirúrgico, que ficou agendado para dia 10 de novembro.

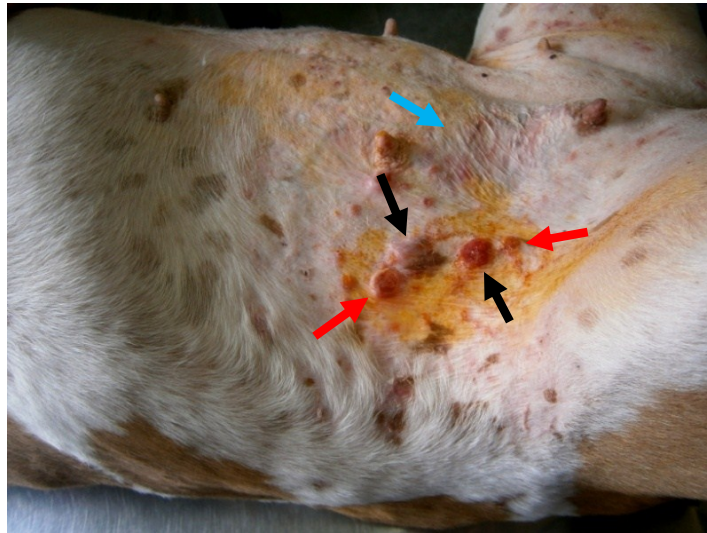


Figura 11 – Lesões nodulares (setas pretas), úlceras (setas vermelhas) e área de pele adelgada (seta azul) da “Rania” na consulta de dia 19 de outubro, no serviço de oncologia do HVC. (Original).

Quando a paciente foi levada até ao hospital, para realização da cirurgia, os nódulos tinham regredido e as úlceras tinham diminuído de tamanho ou mesmo encerrado por completo (Figura 12). A cirurgia não foi feita. Instruiu-se o proprietário a manter a restrição solar, a aplicação de protetor, o uso de uma peça de roupa e continuar a administração da vitamina A e aplicação tópica de rifocina.



Figura 12 – “Rania” na consulta de dia 10 de novembro, no serviço de oncologia do HVC. (Original).

Aproximadamente dois meses mais tarde, dia 12 de janeiro 2012, os nódulos de “Rania” tinham voltado, uma vez mais, na zona do abdómen ventral. Alguns dos nódulos estavam infetados. Era também visível eritema generalizado das áreas despigmentadas e de pelagem branca da zona ventral e lateral do tórax e abdómen, mas também na face interna dos membros posteriores. A pele encontrava-se muito fina, com algumas pápulas, máculas e como zonas ulceradas. Nas áreas de pelagem branca no abdómen lateral existiam zonas de alopecia (Figura 13). Verificou-se a existência de cinco nódulos com diferentes tamanhos, sendo o maior com 3,9cm x 3,3cm x 1,6cm e o menor com 1,7cm x 0,9cm x 1,0cm. No que respeita às úlceras, estas apresentavam uma grande variação nas suas dimensões, algumas tinham poucos milímetros, mas outros apresentavam alguns centímetros de diâmetro, sendo a maior de 4,3cm x 3,5cm. Voltou-se a recorrer à terapêutica com cefalexina (Cefex 1 grama®) um comprimido, PO, BID, durante 7 dias (pois algumas úlceras apresentavam exsudado à superfície), carprofeno (Carproflan 100mg®), em dosagem idêntica à anterior, durante 14 dias, e aplicação de rifocina *spray*, TID, nas lesões ulceradas. Instruiu-se o proprietário que a restrição solar, aplicação de protetor e uso de uma peça de roupa se deveriam manter. No dia 3 de fevereiro de 2012 foi feita cirurgia para extração dos nódulos e úlceras maiores, que tinha regredido ligeiramente desde a última avaliação. A paciente recuperou bem da cirurgia com excelente cicatrização.



Figura 13 – Lesão nodular (seta preta), úlceras (setas vermelhas), eritema generalizado e máculas da “Rania” na consulta de dia 12 de janeiro, no serviço de oncologia do HVC. (Original).

No dia 1 de março o proprietário levou “Rania” à consulta de revisão. Apesar de ainda apresentar algumas pápulas, máculas, úlceras de tamanho inferior a 1,5cm x 1,5cm e de a pele ainda se encontrar marcadamente adelgada, a paciente não apresentava lesões nodulares e a pele estava muito menos eritematosa.

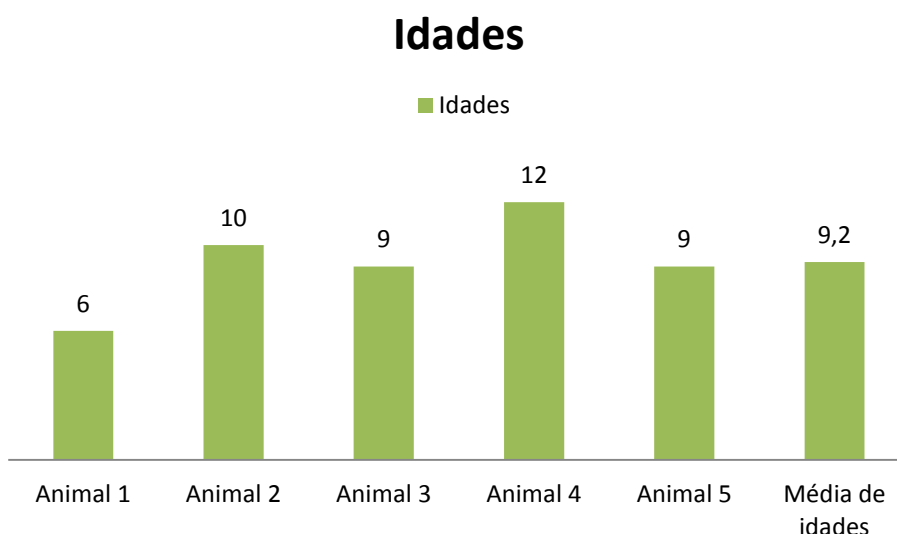
De referir que, mais uma vez, foi prescrito carprofeno, em vez de firocoxib, por motivos de ordem económica.

CONCLUSÕES

Durante os cinco meses de estágio curricular no serviço de oncologia do HVC, foi-me possível acompanhar alguns casos de cães com CEC cutâneo relacionado com a exposição à radiação solar. Dos casos anteriormente relatados, e de acordo com o que se encontra descrito na literatura, os animais acometidos tinham todos pelagem clara, pele despigmentada e os proprietários referiram hábitos de exposição solar. Mesmo nos casos de animais com pelagem malhada ou com pele mista (zonas pigmentadas e outras despigmentadas), as lesões apenas foram registadas em áreas de pelo branco e pele despigmentada. As lesões apresentaram-se principalmente nas áreas do tórax e abdómen ventral, coincidentemente com o que é relatado por vários autores.

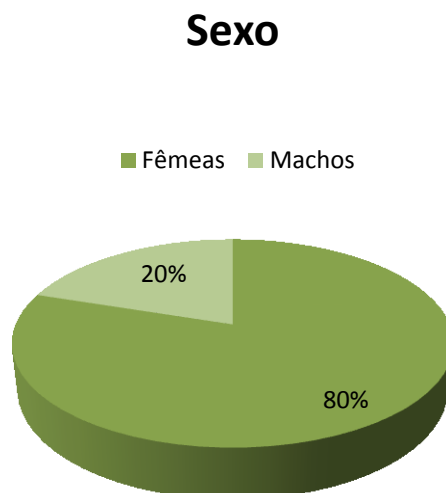
A média de idade dos animais da amostra foi de 9,2 anos, este valor também vai de encontro ao que é referido na literatura (Gráfico 1).

Gráfico 1- Média de idades dos animais da amostra



No que diz respeito ao sexo dos animais afetados por este processo patológico, registou-se que 80% dos animais pertenciam ao sexo feminino. Este facto foi discordante com o que afirmam os diversos autores, que referem não existir predisposição sexual para o CEC cutâneo. No entanto, uma amostra de 5 animais não é representativa, o que justifica a discrepância verificada.

Gráfico 2- Distribuição sexual da amostra



Em quatro dos cinco casos da amostra, foi possível atribuir a provável etiologia das lesões de CEC à radiação UV, pois, além das lesões neoplásicas, os animais apresentavam quadros clínicos típicos de dermatite solar ou de QA associados. Apenas um animal da amostra não apresentou lesões actínicas associadas à lesão neoplásica. Neste caso, não foi possível estabelecer uma etiologia provável para o CEC. Contudo, também não se pode descartar que a radiação UV tenha sido o agente causal, pois o animal tinha pelagem branca e pele despigmentada.

Apesar de não haver um protocolo padrão para o tratamento de lesões de CEC, porque depende muito da apresentação clínica das lesões, a extração cirúrgica demonstrou ser a modalidade que possibilita um maior período sem recorrência da patologia. No entanto, muitos dos casos em que o fator etiológico é a radiação UV as lesões são múltiplas e encontram-se disseminadas, impossibilitando a extirpação cirúrgica. Nestes casos de lesões disseminadas, no HVC é frequente recorrer-se ao uso de AINES como tentativa de reduzir ao máximo as dimensões das lesões antes de se realizar a cirurgia. O anti-inflamatório de eleição é o firocoxib, pois trata-se de um AINES de última geração com maior seletividade para COX-2. Este anti-inflamatório possui uma afinidade para COX-2 380 vezes superior do que para COX-1 e, por esta razão, os efeitos secundários a ele associados são mínimos. A maior desvantagem do firocoxib é o seu preço, que o torna, muitas vezes, proibitivo para animais de maiores dimensões. Nesses casos, opta-se por outro anti-inflamatório, o carprofeno, que, embora não seja tão potente como o firocoxib, também possui uma maior preferência para COX-2 do que para COX-1.

Os anti-inflamatórios constituem uma alternativa prática e menos dispendiosa do que outras modalidades terapêuticas que também podem ser associadas à cirurgia. Os resultados da terapia combinada de AINES e cirurgia foram satisfatórios na maioria dos casos descritos. No único caso da amostra que não obteve nenhuma resposta ao tratamento com AINES,

decidiu-se aplicar 5-FU endovenoso, que, neste caso, também não demonstrou ter efeito benéfico.

No caso em que se fez uso da vitamina A, para tentar controlar as lesões pré-neoplásicas, não foi possível estabelecer a sua real utilidade.

No caso clínico 5, apesar de não ter acompanhado o caso desde o início (junho de 2010), ficou demonstrado, não só a progressão de lesões de dermatite solar e QA para CEC (que ocorreu num período de 6 meses), mas também o carácter crónico e recidivante que esta neoplasia pode apresentar.

Por último, nenhum dos casos acompanhados durante o estágio curricular apresentou indícios de metastização, o que, mais uma vez, suporta a bibliografia consultada, que caracteriza o CEC como sendo uma neoplasia com baixo potencial metastático.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Dissi, A.N., Haines, D.M., Singh, B. & Kidney, B.A. (2007). Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor associated with tumor cell proliferation in canine cutaneous squamous cell carcinoma and trichoepitheliomas. *Vet. Pathol.*, **44**, 823-830.
- Almeida, E.M.P., Piché, C., Sirois, J. & Doré, M. (2001). Expression of cyclo-oxygenase-2 in naturally occurring squamous cell carcinomas in dogs. *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, **49**(7), 867-875.
- Aroni, K., Mastoraki, A., Kyriazi, E., Ioannidis, E. & Patsouris, E. (2007). Silver-stained organizer regions and immunoglobulins in cutaneous keratoacanthomas and squamous cell carcinomas. *Pathology- Research and Practice*, **203**, 659-665.
- Bardagí, M., Fondevila, D. & Ferrer, L. (2012). Immunohistochemical detection of COX-2 in feline and canine actinic keratoses and cutaneous squamous cell carcinoma. *J. Comp. Path.*, **146**, 11-17.
- Bongiovanni, L., Colombi, I., Fortunato, C. & Salda, L.D. (2009). Survivin expression in canine epidermis in canine and human cutaneous squamous cell carcinomas. *Veterinary Dermatology*, **20**, 369-376.
- Bongiovanni, L., Malatesta, D., Brachelente, C., D'Edigio, S. & Salda, L.D. (2011). β -catenin in canine skin: immunohistochemical pattern of expression in normal skin and cutaneous epithelial tumors. *J. Comp. Path.*, **145**, 138-147.
- Bongiovanni, L., Antonio, M.D., Romanucci, M., Malatesta, D., Sforna, M., Mechelli, L., Salda, L.D. & Brachelente, C. (2012). Tumor epithelial vimentin expression in canine cutaneous squamous cell carcinoma [abstrat]. *Proceedings ESVP/ECVP*. Uppasla, Sweden, pp.86
- Bregman, C.L., Hirth, R.S., Sundberg, J.P. & Christensen, E.F. (1987). Cutaneous Neoplasms in dogs associated with canine oral papillomavirus vaccine. *Vet. Pathol.*, **24**, 477-487.
- Bregman, P.J. (2010). Immunotherapy. In: C.J.Henry & M.L.Higginbotham. *Cancer management in small animal practice*. (pp.157-162). Missouri: Sanders/Elsevier.
- Breton, L. & Franz, I.B. (2009). Pet food composition for skin photoprotection. *United States Patent Application Publication*, **2009/0104169**, 1-3.
- Bukhari, M.H., Niazi, S., Anwar, M., Chaudhry, N.A. & Naeem, S. (2008). Prognostic significance of new immunohistochemistry scoring of p53 protein expression in cutaneous squamous cell carcinoma of mice. *Ann. N.Y. Acad. Sci*, **1138**, 1-9.
- Cadogan, M. (2012). *Life in the fastlane.com*. Acedido em Abr. 9, 2012, disponível em: <http://lifeinthefastlane.com/education/skin-rash-dermatology/>
- Callan, M.B., Preziosi, D. & Mauldin, E. (2005). Case report-Multiple papillomavirus-associated epidermal hamartomas and squamous cell carcinomas in situ in a dog following chronic treatment with prednisone and cyclosporine. *Veterinary Dermatology*, **16**, 338-345.

- Câmara Municipal de Lisboa. (2012). Município - História – Geografia de Lisboa. Acedido em Abr. 7, 2012, disponível em: www.cm-lisboa.pt/?idc=4
- Cemazar, M., Tamzali, Y., Sersa, G., Tozon, N., Mir, L.M., Miklavcic, D., Lowe, R. & Teissie, J. (2008). Electrochemotherapy in veterinary oncology. *J Vet Intern Med*, **22**, 826-831.
- Chun, R. (2010). Paraneoplastic syndromes. In: C.J. Henry & M.L. Higginbotham. *Cancer management in small animal practice*. (pp.94-96). Missouri: Saunders/Elsevier.
- Clarke, F.S. (2006). Consideraciones sobre la capa de ozono y su relación com él cáncer de piel. *Ver Méd Chile*, **134**, 1185-1190.
- Costa, S.S. (2009). *Proliferação celular e expressão da cicloxigenase-2 como parâmetros prognósticos na ceratose actínica e no carcinoma de células escamosas cutâneo em cães*. Tese de mestrado em Medicina Veterinária. São Paulo: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-Universidade Estadual Paulista Câmpus de Jaboticabal.
- Coulter, L.K., Wolber, R. & Tron, V.A. (1995). Site-specific comparison of p53 immunostaining in squamous cell carcinomas. *Human pathology*, **26**, 531-533.
- Cunha, S.C.S., Pinheiro, I.M., Carvalho, L.A.V., Canary, P.C., Reissner, M., Sousa, H.J.M., Corgozinho, K.B., Moura, M.P. & Ferreira, A.M.R. (2009). Radiation therapy for feline cutaneous squamous cell carcinoma using hipofractionated protocol-273. *Proceedings of the 34th World Small Animal Veterinary Congress-WSAVA*. São Paulo, Brazil, S/N
- Cunha, S.C.S., Carvalho, L.A.V., Canary, P.C., Reisner, M., Corgozinho, K.B., Pereira, A.N., Holguin, P.G., Souza, H.J.M. & Ferreira, A.M.R. (2010). Tratamento hipofractionado de radioterapia em felinos portadores de carcinoma epidermoide facial. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, **62(5)**, 1135-1141.
- Dernell, W.S. (2005). Skin tumors-case management. *Proceeding of the NAVC-North American Veterinary Conference*. Orlando, Florida, pp.620-621
- Dornelas, M.T., Machado, D.C., Ferreira, A.F., Rodrigues, M.F. & Gollner, A.M. (2009). Expressão de marcadores de proliferação celular e apoptose no carcinoma espinocelular de pele e ceratose actínica. *An Bras Dermatol*, **84(5)**, 469-75.
- Dougherty, T.J., Thoma, R.E., Boyle, D.G. & Weishaupt, K.R. (1981). Interstitial photoradiation therapy for primary solid tumors in pet cats and dogs. *Cancer Research*, **41**, 401-404.
- Farias, M.L.F. (2005). A hipercalcemia nas malignidades: aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos. *Arq Bras Endocrinol Metab*, **49 (5)**, 816-824.
- Fernandes, M.A.R., Andrade, A.L., Biazzone, L., Luvizorro, M.C.R., Santos, A. & Correa, C. (2003). Gold (¹⁹⁸Au) foils brachytherapy use on canine skin tumor. *Brazilian Journal of Veterinary, Research and Animal Science*, **40**, 321-327.
- Ferreira, K.C.R.S., Oliveira, R.T., Gomes, C., Fernandes, A.O., Cardoso, C.S., Garcez, T.N.A., Faraon, A. & Oliveira, L.O. (2009). Uso do 5-fluorouracil associado à cirurgia como terapêutica para o carcinoma de células escamosas em cães. *Acta Scientiae Veterinariae*, **37(1)**, 89-92.
- Ferrer, L. (2005). New therapies in veterinary dermatology. *Proceeding of the NAVC-North American Veterinary Conference*. Orlando, Florida, pp.239-240

- Goldschmidt, M.H. & Hendrick, M.J. (2002). Tumors of the skin and soft tissues. In : D. J. Meuten (Ed), *Tumors in domestic animals*. (4thed.). (pp.46-52). Iowa: Blackwell Publishing Company.
- Grain, E. (1982). Hypercalcemia associated with squamous cell carcinoma in a dog. *JAVMA*, **181**(2), 165-166.
- Grandi, F., Monteiro, L.N., Fernandes, T.R., Salgado, B.S. & Rocha, N.S. (2011). What is your diagnosis? cutaneous mass in the mammary region of a dog. *Vet clin Pathol*, **40**/1, 101-102.
- Gross, T.L., Ihrke, P.J., Walder, E.J. & Affolter, V.K. (2005). *Skin diseases of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis*. Oxford: Blackwell Publishing Company.
- Hargis, A.M., Thomassen, R.W. & Phemister, R.D. (1977). Chronic dermatosis and cutaneous squamous cell carcinoma in the beagle dog. *Vet. Pathol*, **14**, 218-228.
- Hargis, A.M. (2005). Sistema tegumentar. In: W.W. Carlton & M.D. McGaum, *Patologia veterinária especial de Thomson*. (2nd ed.) (pp.502-503). Porto Alegre, Brasil: Artes Médicas Ltda.
- Jagu, S., Malandro, N., Kwak, K., Yaun, H., Schlegel, R., Palmer, K.E., Huh, W.K., Campo, M.S. & Roden, R.B.S. (2011). A multimeric L2 vaccine for prevention of animal papillomavirus infections. *Virology*, **420**, 43-50.
- Júnior, M.R.M., Filho, J.L.S.A, Patu, V.J.R.M., Machado, M.C.F.P., Beltrão, E.I.C. & Carvalho Jr., L.B. (2006). Digital image analysis of skin neoplasms evaluated by lectin histochemistry: potential marker to biochemical alteration and tumour differential diagnosis. *J Bras Patol Med Lab*, **42**(6), 455-460.
- Junqueira, L.C. & Carneiro, J. (2004). Pele e anexos. In: *Histologia Básica*. (10^aed.). (pp.359-364). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Kitchell, B.K., Orenberg, E.K., Brown, D.M., Hutson, C., Ray, K., Woods, L. & Luck, E. (1995). Intralesional sustained-release chemotherapy with therapeutic implants for treatment of canine sun-induced squamous cell carcinoma. *European Journal of Cancer*, **31**(12), 2093-2098.
- Kitchell, B.E. & Dervisis, N.G. (2010). Pathophysiology and tumor cell growth. In: C.J. Henry & M.L. Higginbotham. *Cancer management in small animal practice*. (pp.2-9). Missouri: Saunders/Elsevier.
- Kleinpenning, M.M., Wolberink, E.W., Smits, T., Blokx, W.A.M., Kerkhof, P.C.M.V., Erp, P.E.J.V. & Gerritsen, M.J.P.R. (2010). Fluorescence diagnosis in actinic keratosis and squamous cell carcinoma. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, **26**, 297-302.
- Levine, N. (1998). Role of retinoids in skin cancer treatment and prevention. *Journal of the American Academy of Dermatology*, **39**(2), 62-66.
- Lloret, A. (2008). The use of COX-2 drugs in oncology: clinical cases. *Proceeding of the SEVC-Southern European Veterinary Conference*. Barcelona, Spain, S/N
- Lucas, R. & Larsson, C.E. (2006). Crioterapia na clínica veterinária: avaliação da praticabilidade e efetividade em carcinoma espinocelular de felinos. *Braz. J. vet. Res. Anim. Sci*, **43**, 33-42.

- Lucroy, M.D. (2003). Photodynamic therapy. In: J.M. Dobson & B.C. Lascelles, *Canine and feline Oncology*. (2nd ed.). (pp.126-129). England: B.S.A.V.A.
- Lucroy, M.D. (2005). The role of COX-2 inhibitors in cancer treatment. *Proceeding of the NAVC-North American Veterinary Conference*. Orlando, Florida, pp.656
- Macy, D.W. (2001). Hematopoietic tumors. In: S.J. Withrow & S.J. MacEwer, *Small animal clinical oncology*. (3rd ed.). (pp.546-548). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Macy, D.W. & Reeds, K. B. (2010). Veterinary cancer etiology. In: C.J.Henry & M.L.Higginbotham. *Cancer management in small animal practice*. (pp.20-24). Missouri: Sunders/Elsevier.
- Maiolino, P., Vico, G.D. & Restucci, B. (2000). Expression of vascular endotelial growth factor in basal cell tumors and in squamous cell carcinomas of canine skin. *J. Comp. Path.*, **123**, 141-145.
- Maiolino, P., Papparella, S., Restucci, B. & Vico, G.D. (2001). Angiogenesis in squamous cell carcinoma of canine skin: an immunohistochemical and quantitative analysis. *J. Comp. Path.*, **125**, 117-121.
- Maiolino, P., Restucci, B., Papparella, S. & Vico, G.D (2002). Nuclear Morphometry in squamous cell carcinomas of canine skin. *J. Comp. Path.*, **127**, 114-117.
- Markey, A.C. (1995). Etiology and phathogenesis of squamous cell carcinoma. *Clinics in Dermatology*, **13**, 537-543.
- McCaw, D.L. & Bryan, J.N. (2010). Photodynamic therapy. In: C.J. Henry & M.L. Higginbotham. *Cancer management in small animal practice*. (pp.163-166). Missouri: Sunders/Elsevier.
- Medleau, L. & Hnilica, K.A. (2009). Dermatites causadas por virus, riquétias e protozoários. In: *Dermatologia de pequenos animais-atlas colorido e guia terapêutico*. (pp-141-142). São Paulo: Roca.
- Mesquita, C.J.G., Leite, J.A.D., Fachine, F.V., Rocha, J.L.C., Leite, J.G.S., Filho, J.A.F.L. & Filho, R.A.B. (2010). Effect of imiquimod on partial-thickness burns. *Burns*, **36**, 97-108.
- Mir, L.M. (2006). Bases and rationale of the electrochemotherapy. *EJC Supplements*, **4**, 38-44.
- Moore, A.S., Theilen, G.H., Newell, A.D., Madewell, B.R. & Rudolf, A.R. (1991). Preclinical study of sequential tumor necrosis factor and interleukin 2 in the treatment of spontaneous canine neoplasms. *Cancer Research*, **51**, 233-238.
- Morris, J. & Dobson, J. (2002). *Oncologia en pequeños animales*. Buenos Aires: Inter-Médica.
- Munday, J.S., O'Connor, K. & Bronwyn, S. (2010a). Development of multiple pigmented viral plaques and squamous cell carcinomas in a dog infected by a novel papillomavirus. *Veterinary Dermatology*, **22**, 104-110.
- Munday, J.S. & Kiupel, M. (2010b). Papillomavirus-associated cutaneous neoplasia in mammals. *Veterinary Pathology*, **47(2)**, 254-264.

- N-Guim, T. Guim, T.N., Kaiser, J.F., Berselli, M., Scope, D., Schmitt, B., Gamba, C., Raposo, J.B. & Fernandes, C.G. (2009). Estudo retrospectivo em 68 casos de carcinoma de células escamosas em caninos e felinos. *Proceeding of the XVIII CIC, XI ENPOS, I M.C- XVIII Congresso de iniciação científica; XI Encontro de pós-graduação; I Mostra científica*. Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, S/N
- Nesbitt, G.H. (1998). Canine cutaneous neoplastic and nonneoplastic tumors and cysts. In: G.H. Nesbitt & L.J. Ackerman, *Canine and feline dermatology-diagnosis and treatment*. (pp.279-290). New Jersey: Veterinary Learning Systems.
- NetPetrópolis. (2005). Sobre Petrópolis. Acedido em Abr. 7, 2012, disponível em www.netpetropolis.com.br/materias.php?cd_secao=114&codant=&friurl=em
- Nicholls, P.K. & Stanley, M.A. (1999). Canine papillomavirus-a century review. *J. Comp. Path*, **120**, 219-233.
- Northrup, N. & Gieger, T. (2010). Tumors of the skin, subcutis and other soft tissues. In: C.J. Henry & M.L. Higginbotham. *Cancer management in small animal practice*. (pp. 299–328). Missouri: Saunders/Elsevier.
- Ohlerth, S., Bley, C.R., Lalahová, D., Roos, M. & Hotz, B.K. (2010). Assesment of changes in vascularitu and blood volume in canie sarcomas and squamous cell carcinomas during fractionated radiation therapy using quantified contrast-enhanced power Doppler ultrasonography: a preliminary study. *The Veterinary Journal*, **186**, 58-63.
- Otter, W.D., Jacobs, J.J.L., Battermann, J.J., Hordijk, G.J., Krastev, Z., Moiseeva, E.V., Stewart, R.J.E., Ziekman, P.G.P.M. & Koten, J.W. (2008). Local therapy of cancer with free IL-2. *Cancer Immunol Immunother*, **57**, 931-950.
- Peterson, J.L. (2006). Tumors of the skin and subcutaneous tissue In: S.J. Birchard & R.G. Sherding, *Saunders manual of small animal practice*. (3rd ed.). (pp.316-321). Missouri: Saunders.
- Queiroz, G.F. & Matera, J.M. (2003). Princípios gerais de criocirurgia no tratamento de tumores em pequenos animais: revisão de literatura. *Ver. Educ. Contin. CRMV-SP*, **6(1/3)**, 53-62.
- Rangel, M.M.M., Nishiya, A.T., Oliveira, K.D., Souza, S.S., Cogliatu, B. & Dagli, M.L.Z. (2009). Adjuvant electrochemotherapy in treatment of diffuse squamous cell carcinoma in dog-681. *Proceedings of the 34th World Small Animal Veterinary Congress-WASAVA*. São Paulo, Brazil, S/N
- Rassnick, K.M. (2010). Tumors of the skin. In: S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Textbook of veterinary internal medicine*. (7TH ed.). vol.2. (pp. 2160-2162). Missouri: Elsevier Health Sciences.
- Reed, S.D., Fulmer, A., Buckholz, J., Zhang, B., Cutrera, J., Shiomitsu, K. & Li, S. (2010). Bleomycin/interleukin-12 electrochemogenetherapy for treating naturally occurring spontaneous neoplasms in dogs. *Cancer Gene Therapy*, **10**, 571-578.
- Rodaski, S. & Werner, J. (2009). Neoplasias de pele. In: C.R. Daleck, A.B. Nardi & S. Rodaski, *Oncologia em cães e gatos*. (pp.254-297). São Paulo: Roca.

- Romanucci, M., Bongiovanni, L., Marruchella, G., Marà, M., Guardo, G.D., Preziosi, R. & Salada, L.D. (2005). Heath shock proteins expression in canine intracutaneous cornifying epithelioma and squamous cell carcinoma. *Veterinary Dermatology*, **16**, 108-116.
- Rosen, C. (1999). The health impact of solar radiation – unanswered questions on the use of sunscreens. *J. Am. Acad. Dermatol*, **41**, 87-91.
- Rubenstein, R., Hufford, D., Downham, T., Trancik, R., & Swerlick. R. (1999). The health impact of solar radiation – a stratospheric ozone depletion: major or minor skin health risk?. *J. Am. Acad. Dermatol*, **41**, 82-84.
- Sakai, H., Yamane, T., Yanai, T., Shirai, N. & Masegi, T. (2001). Expression of cyclin kinase inhibitor p27^{kip1} in skin tumours of dogs. *J. Comp. Path.*, **125**, 153-158.
- Schenck, P.A & Chew, D.J. (2006). Diseases of the parathyroid gland and calcium metabolism. In: S.J. Birchard & R.G. Sherding, Manual of small animal practice. (3rd ed.). (pp.345-346). Missouri: Saunders/Elsevier.
- Scopel D., Spader, M.B., Guim, T.N., Danieli, V.M. & Fernandes, C.G. (2007), Estudo retrospectivo da casuística de carcinoma de células escamosas em felinos,bovinos,caninos,equinos e ovinos entre os anos de 2002 e 2006 no LRD/UFPEL. *Proceeding of the XVI CIC; IX ENPOS - XVI Congresso de iniciação científica; IX Encontro de pós-graduação*; Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, S/N
- Scott, D.W., Miller, W.H. & Griffin, C.E. (2001). *Muller & Kirk's small animal dermatology*. (6th ed.). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Sharif, M.A.M. (2006). *Epidemiology of skin tumor entities according to the new WHO classification in dogs and cats*. Dissertação de Doutorado em Medicina Veterinária. Gießen: Institut für Veterinär-Pathologie - Justus-Liebig-Universität Gießen.
- Sherding, R.G. (2006). Infectious disease. In: S.J. Birchard & R.G. Sherding, *Saunders manual of small animal practice*. (3rd ed.). (pp.174-175). Missouri: Saunders.
- Souza, T.M., Figuera, R.A, Irigoyen, L.F. & Barros, C.S.L. (2006). Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães. *Ciência Rural, Santa Maria*, **36**, 555-560.
- Spugnini, E.P., Baldi, F., Mellone, P., Feroce, F., Avino, A., Bonetto, F., Vincenzi, B., Citro, G. & Baldi, A. (2007). Patterns of tumor response in canine and feline cancer patients treated with electrochemotherapy: preclinical data for the standardization of this treatment in pets and humans. *Journal of Translational Medicine*, **5**, Article 48. Acedido em Mar. 15, 2012, disponível em <http://www.translational-medicine.com/content/5/1/48>
- Subbaramaiah, K., Altorki, N., Chung, W.J., Mestre, J.R., Sampat, A. & Dannenberg, J. (1999). Inhibition of cyclooxygenase-2 gene expression by p53. *The Journal of Biological Chemistry*, **274(16)**, 10911-10915.
- Takahashi, H., Nakajima, S., Sakata, I., Yamamoto, A.I. & Iizuka, H. (2005). Photodynamic therapy using a novel photosensitizer, ATX-S10(Na): comparative effect with 5-aminolevulinic acid in squamous cell carcinoma cell line, SCC15, ultraviolet B-induced skin tumor, and phorbol ester-induced hyperproliferative skin. *Arch Dermatol Res*, **296**, 496-502.

- Takaishi, H., Yoshida, Y., Nakagaki, K., Fujita, M., Taniguchi, A. & Orima, H. (2008). Expression of SART-1 mRNA in canine squamous cell carcinomas. *J. Vet. Med. Sci.*, **70**(12), 1333-1335.
- Tatibana, L.S., Veado, J.C.C., Santana, G.C. & Val, A.P.C. (2011). Dermatite solar em cães e gatos: revisão de literatura e relato de casos em cães. *Medvop - Revista científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais de Estimação*, **9**(28), 49-54.
- Teifke, J.P. & Löhr, C.V. (1996). Immunohistochemical detection of p53 overexpression in paraffin wax-embedded squamous cell carcinomas of cattle, horses, cats and dogs. *J. Comp. Path.*, **114**, 205-210.
- Teifke, J.P., Löhr, C.V. & Shirasawa, H. (1998). Detection of canine oral papillomavirus-DNA in canine oral squamous cell carcinomas and p53 overexpressing skin papillomas of the dog using the polymerase chain reaction and non-radioactive in situ hybridization. *Veterinary Microbiology*, **60**, 119-130.
- Teske, E. (2010). COX-2 therapy and cancer. *Proceedings of the 35th World Small Animal Veterinary Congress-WASAVA*. Geneva, Switzerland, S/N
- Théon, A.P. (2010). Practical radiation therapy. In: S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Textbook of veterinary internal medicine*. (7th ed.). vol.2. (pp. 2137-2148). Missouri: Elsevier Health Sciences
- Thomas, R.C. & Fox, L.E. (1998). Tumors of the skin and subcutis. In: W.B. Morrison, *Cancer in dogs and cats-medical and surgical management*. (pp.489-496). Maryland: William & Wilkins.
- Tobler, K., Lange, C., Ackermann, M. & Favrot, C. (2007). Detection of a novel papillomavirus in pigmented plaques of four pugs. *Veterinary Dermatology*, **19**, 21-25.
- Vail, D.M. & Withrow, S.J. (2001). Tumors of the skin and subcutaneous tissues. In: S.J. Withrow & S.J. MacEwen, *Small animal clinical oncology*. (3rd ed.). (pp.233-243). Philadelphia : W.B. Saunders.
- Wheeler, D.L., Ness, K.J., Oberley, T.D. & Verma, A.K. (2003). Protein kinase C ϵ is linked to 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor necrosis factor- α ectodomain shedding and the development of metastatic squamous cell carcinoma in protein kinase C ϵ transgenic mice. *Cancer Research*, **40**, 6547-6555.
- World Health Organization [WHO]. (2012). Health topics – cancer. Acedido em Mar. 26, 2012, disponível em: <http://www.who.int/topics/cancer/en/>
- Xie, Z., Chen, Y., Liao, E.Y., Jiang, Y., Liu, F.Y. & Pennypacker, S.D. (2010). Phospholipase C- γ 1 is required for the epidermal growth factor receptor-induced squamous cell carcinoma cell mitogenesis. *Biophysical Research Communications*, **397**, 296-300.
- Yagihara, H., Kinjo, E., Kobayashi, Y., Tsuji, A., Nishimura, Y., Shinozaki, N., Tamura, K., Isotani, M., Najagaki, K., Takahashi, K., Ono, K., Washizu, T. & Bonkobara, M. (2009). Expression of canine Kdap in normal, hyperplastic and neoplastic epidermis. *The Veterinary Journal*, **180**, 348-355.
- Yuan, H., Ghim, S., Newaome, J., Apolinario, T., Olcese, V., Martin, M., Delius, H., Felsburg, P., Jenson, B. & Schlegel, R. (2007). An epidermotropic canine papillomavirus with malignant potential contains an E5 gene and establishes a unique genus. *Virology*, **359**, 28-36.